

Série A, n° 1017

N° d'ordre 1853

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

le grade de docteur ès Sciences Naturelles

PAR

Marcel DUVAL

PREMIÈRE THÈSE

**Recherches physico-chimiques et physiologiques
sur le milieu intérieur des animaux aquatiques
Modifications sous l'influence du milieu extérieur**

DEUXIÈME THÈSE

Proposition donnée par la Faculté

Soutenues le *13* Juin 1925 devant la Commission d'examen

MM. P. PORTIER.....	Président
V. AUGER	} Assesseurs
MOUTON.....	



PARIS

ED. BLONDEL LA ROUGERY, ÉDITEUR

7, RUE SAINT-LAZARE

1925

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

le grade de docteur ès Sciences Naturelles

PAR

Marcel DUVAL

PREMIÈRE THÈSE

**Recherches physico-chimiques et physiologiques
sur le milieu intérieur des animaux aquatiques
Modifications sous l'influence du milieu extérieur**

DEUXIÈME THÈSE

Proposition donnée par la Faculté

Soutenues le Juin 1925 devant la Commission d'examen

MM. P. PORTIER	Président
V. AUGER	} Assesseurs
MOUTON.....	



PARIS

ED. BLONDEL LA ROUGERY, ÉDITEUR

7, RUE SAINT-LAZARE

1925

Faculté des Sciences de l'Université de Paris

MM.

Doyen M. MOLLIARD, *Professeur*. Physiologie végétale.

Doyen honoraire P. APPELL.

Professeurs honoraires

P. PUISEUX.
C. VÉLAIN.
V. BOUSSINESQ.
A. HALLER.
A. JOANNIS.



Professeurs

Emile PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KËNIGS Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT Minéralogie.
H. ANDOYER Astronomie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
E. HAUG Géologie.
H. LE CHATELIER... Chimie générale.
Gabriel BERTRAND... Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE..... Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ..... Chimie appliquée.
G. URBAIN..... Chimie minérale.
Emile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique.
H. ABRAHAM Physique.
E. CARTAN..... Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE Physiologie.
L. GENTIL..... Géographie physique.
E. VESSIOT Théorie des groupes et calcul des variations.
A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY..... Physique.
Charles PÉREZ..... Zoologie.
A. LEDUC Physique théorique et physique céleste.
Léon BERTRAND... Géologie appliquée et géologie régionale.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
P. PORTIER..... Physiologie comparée.
P.-A. DANGEARD... Botanique.
C. MAURAIN Physique du globe.
P. MONTEL Mathématiques générales.
P. WINTREBERT... Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ Biologie maritime.
E. BLAISE..... Chimie organique.
M. TIFFENEAU Chimie (Enseignement P. C. N.).
N. Mécanique rationnelle.

Professeurs-adjoints

E. HÉROUARD Zoologie.
Rémy PERRIER..... Zoologie (Enseignement P. C. N.).
G. SAGNAC Physique théorique et physique céleste.
E. PÉCHARD Chimie (Enseignement P. C. N.).
V. AUGER Chimie analytique.
M. GUICHARD..... Chimie minérale.
A. GUILLET Physique.
G. JULIA Mathématiques générales.
C. MAUGUIN Minéralogie.
L. BLARINGHEM... Botanique.
A. MICHEL-LÉVY... Pétrographie.

Secrétaire Daniel TOMBECK.

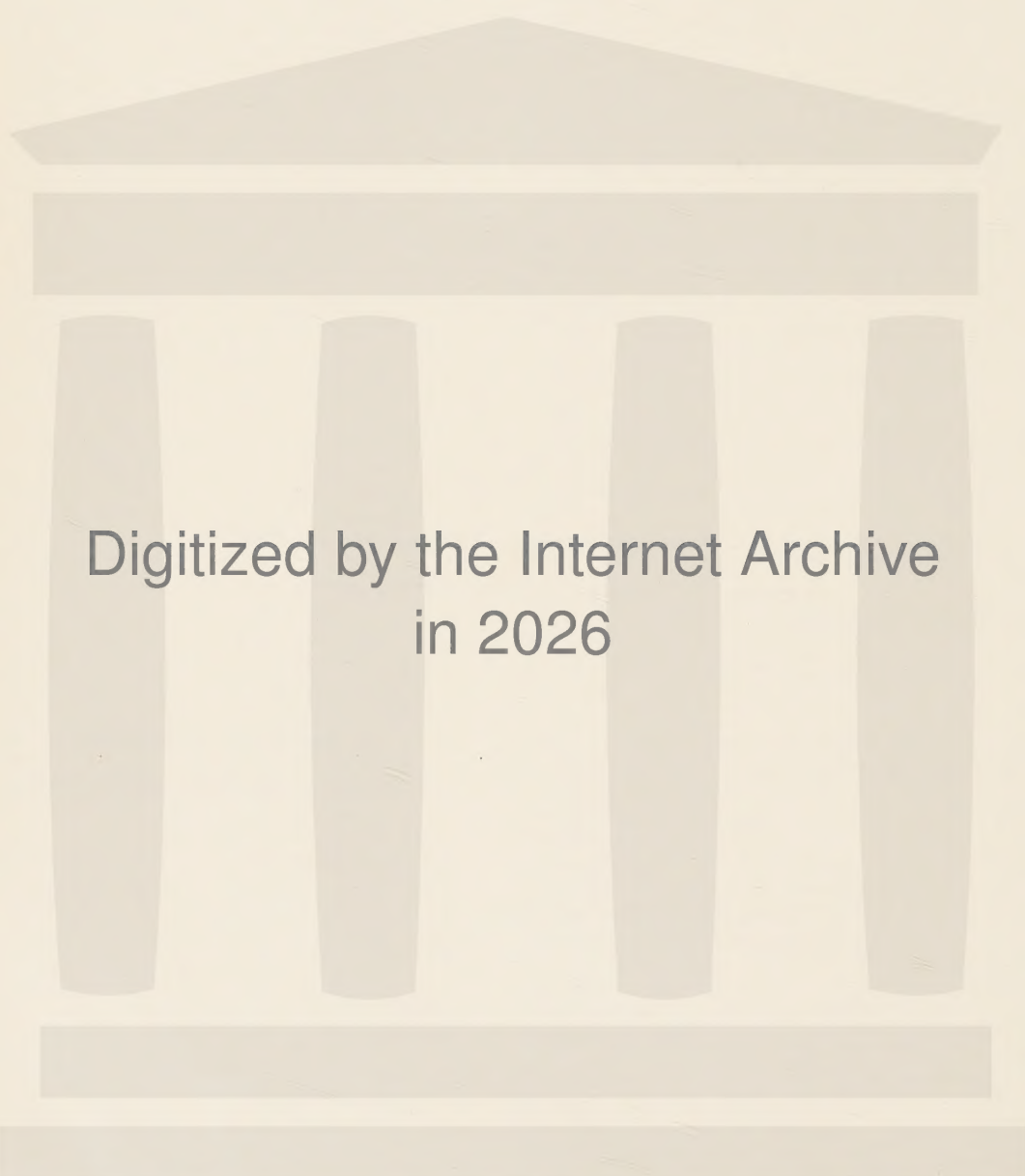
A MES PARENTS

A MA FEMME

A MON CHER MAITRE, M. LE DOCTEUR P. PORTIER

Professeur à la Sorbonne et à l'Institut Océanographique

HOMMAGE RESPECTUEUX
ET AFFECTUEUSEMENT RECONNAISSANT



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554011_0009

RECHERCHES

physico-chimiques et physiologiques sur le milieu intérieur des ANIMAUX AQUATIQUES

Modifications sous l'influence du milieu extérieur

PAR

MARCEL DUVAL

INTRODUCTION

La notion de milieu intérieur et de milieu extérieur a été introduite en Physiologie par CLAUDE BERNARD. Voici comment il s'exprime dans sa leçon d'ouverture du cours de Physiologie générale du Muséum en 1876 :

« Les manifestations de la vie exigent un concours de circonstances extérieures convenablement fixées et sensiblement identiques pour toute la série des êtres végétaux et animaux. « Ces conditions du milieu ambiant, *conditions extrinsèques*, sont tout aussi nécessaires que les conditions *intrinsèques* de la substance vivante, c'est-à-dire que celles qui sont résumées dans le mot d'*organisation*. L'absence de l'un ou de l'autre de ces deux facteurs, l'organisation d'une part, les conditions de *milieu* de l'autre, a la même conséquence, qui est d'empêcher tout phénomène vital. La vie est donc le résultat d'une collaboration étroite, ou, en d'autres termes, d'un conflit entre deux facteurs, l'un extérieur, l'autre interne..... « Quelles sont ces conditions extrinsèques?..... Où sont-elles réalisées?..... Ces conditions doivent être réalisées dans le milieu qui entoure immédiatement la particule vivante, organisée, et qui doit entrer en conflit avec elle. Il y a des êtres simples, des organismes réduits à un seul élément anatomique ou à un petit nombre, des êtres cellulaires, des infusoires et des êtres placés plus haut dans l'échelle animale qui entrent directement en relation avec le monde ambiant. Pour ceux-là le véritable milieu qui doit présenter les conditions vitales est ce *milieu extérieur* dans lequel ils sont immédiatement plongés.

« Les êtres plus élevés en organisation, formés par des assemblages d'organismes élémentaires, d'éléments histologiques, n'entrent pas directement en relation avec l'extérieur. Les particules vivantes, profondément situées, abritées du milieu cosmique, doivent trouver ces mêmes circonstances indispensables réunies autour d'elles dans la profondeur où elles siègent. Il y a un véritable milieu intérieur qui sert d'intermédiaire entre le milieu cosmique et la substance vivante. . . . Qu'est-ce que ce milieu intérieur? C'est le sang; non pas à la vérité le sang tout entier, mais la partie fluide du sang, le plasma sanguin. . . . Ce n'est donc pas directement que les conditions extérieures influencent ces êtres compliqués, comme elles influencent les êtres bruts ou les êtres vivants plus simples. Il y a pour eux un introducteur forcé qui interpose son ministère entre l'agent physique et l'élément anatomique des tissus. Aussi est-ce dans le *milieu intérieur* que résident les conditions physiques de la vie.

« La nature plus ou moins étroite des relations du milieu extérieur avec le milieu intérieur, et, par suite, avec l'animal est très importante à considérer. . . . Chez les êtres les plus inférieurs, animaux ou plantes, il n'y a point de milieu intérieur; chez d'autres ce milieu n'a aucune indépendance; dans les deux cas, l'être est immédiatement soumis au milieu extérieur. . . . Dans un second groupe se rangent les êtres chez qui le milieu intérieur est dans une dépendance moins étroite du milieu cosmique, de telle sorte que les oscillations de celui-ci se répercutent sur l'animal lui-même. . . . Enfin. . . . l'être paraît libre : sa vie s'écoule d'un cours constant, affranchie des alternatives du milieu cosmique, C'est qu'un mécanisme compensateur très compliqué maintient constant le milieu intérieur qui enveloppe les éléments des tissus, de telle sorte que ceux-ci sont, quelles que soient les vicissitudes cosmiques, dans une atmosphère identique, dans une véritable serre chaude. »

Si nous avons cité ces magistrales paroles de CL. BERNARD, c'est parce qu'elles forment une introduction toute naturelle à une étude de physiologie comparée qui a pour but de déterminer les relations existant entre les propriétés physicochimiques du milieu extérieur et celles du milieu intérieur des différents représentants de la série animale. C'est une étude de ce genre que nous avons entreprise sur les animaux aquatiques et que nous exposons dans les pages de cet ouvrage.

CL. BERNARD ramenait à quatre le nombre des conditions fondamentales que doit posséder le milieu intérieur pour rester apte à entretenir la vie : la teneur en eau, la richesse en oxygène, la température, la composition chimique. Depuis l'époque où le célèbre physiologiste montrait l'importance de ces conditions extrinsèques, les progrès des sciences physicochimiques ont permis de les préciser. C'est ainsi que la teneur en eau s'exprime maintenant par la concentration moléculaire, mais les plus grands perfectionnements apportés dans l'étude des phénomènes de la vie sont peut-être dus à l'application à ces phénomènes de la théorie des ions imaginée par S. ARRHENIUS. Un volume entier ne suffirait pas à montrer ce que la physiologie lui doit car son champ d'application a été très vaste : Excitabilité, digestion, nutrition, échanges entre le milieu intérieur et le milieu extérieur, etc. . . . De cette théorie des ions découle la notion des solutions équilibrées dont LÖB a montré toute l'importance, mais c'est sans doute en nous faisant comprendre ce qu'est exactement la réaction d'un liquide et en nous donnant les moyens de la mesurer que la théorie d'ARRHENIUS aura été particulièrement féconde en Physiologie. On peut dire que, directement ou indirectement, cette science lui doit tous les progrès qu'elle a réalisés depuis une vingtaine d'années.

Parmi les conditions que doit remplir le milieu intérieur, la constance de sa réaction ionique est peut-être une des plus importantes. Au temps de CL. BERNARD, cette condition

faisait partie de la composition chimique et CL. BERNARD n'a pas particulièrement insisté sur cette réaction. A l'époque actuelle, son importance apparaît chaque jour plus grande et les êtres les moins élevés en organisation, comme les bactéries, possèdent des mécanismes très perfectionnés pour maintenir constante la réaction de leur milieu vital.

Les recherches que nous présentons aujourd'hui constituent une étude de deux des caractéristiques physicochimiques que possède le milieu intérieur des êtres vivants : La concentration moléculaire et la réaction ionique.

La première partie de cet ouvrage, de beaucoup la plus développée, a pour objet la concentration moléculaire. Nous la mesurons dans le sang de quelques Vertébrés et Invertébrés tant marins que d'eau douce, et nous interprétons, au point de vue physiologique, les résultats de nos déterminations physico-chimiques, point de vue qu'il ne faut jamais oublier lorsque l'on s'occupe d'organismes vivants. Ensuite nous examinons comment cette concentration intérieure varie quand on modifie la salinité de l'eau entourant l'animal.

La seconde partie est l'ébauche d'une étude analogue sur la réaction ionique. Après avoir mesuré la réaction de l'eau des rivières et montré l'influence des végétaux sur cette réaction, nous montrons que les animaux tendent à ramener celle de leur milieu extérieur à une valeur plus favorable à leur vie. Nous cherchons ensuite comment l'acidité ou l'alcalinité affectent la vie des poissons et, pour terminer, nous mesurons la réaction du sang et des tissus de quelques animaux aquatiques. Car si celle du sang des Mammifères et des animaux supérieurs est bien connue, par contre les poissons et les Invertébrés ont été très peu étudiés à ce point de vue. Nous avons voulu surtout faire un travail de Physiologie comparée.

* * *

Avant d'exposer notre travail, qu'il nous soit permis d'évoquer ici très respectueusement la mémoire de S. A. S. LE PRINCE ALBERT I^{er} DE MONACO, fondateur de l'Institut Océanographique. C'est grâce aux nombreuses ressources qui nous ont été libéralement fournies par les laboratoires de Paris et de Monaco que nous avons pu effectuer ces recherches. Elles nous ont été inspirées par M. le Professeur P. PORTIER, qui sut éveiller en nous le goût des sciences biologiques. Nous devons à ses conseils toujours guidés par une bienveillante critique, d'avoir pu mener cette étude à bonne fin. C'est pour nous un devoir agréable de l'assurer de nos sentiments de respectueuse reconnaissance pour l'aide matérielle et morale qu'il n'a jamais cessé de nous prodiguer depuis que nous travaillons sous sa direction.

Nous prions MM. les Membres du Conseil de Perfectionnement de l'Institut Océanographique de vouloir bien accepter l'hommage de notre respectueuse gratitude pour l'aide généreuse qu'ils nous ont accordée à l'occasion de nos différents voyages à Monaco.

M. le Docteur RICHARD, Directeur du Musée Océanographique, nous a toujours réservé le plus aimable accueil et a mis à notre disposition tous les moyens de travail qui nous étaient nécessaires. C'est grâce à sa complaisance inlassable que nous avons pu expérimenter sur des Telfuses qu'il voulut bien nous procurer. Qu'il veuille bien accepter l'expression de notre profonde et respectueuse reconnaissance. Les assistants, MM. OXNER et SIRVENT, nous ont rendu service à plusieurs occasions. Nous leur adressons nos vifs remerciements.

M. le Professeur PÉREZ, Directeur du Laboratoire de Roscoff et MM. les Docteurs BOUTAN et R. SIGALAS, Directeur des laboratoires de la Société scientifique d'Arcachon, ont bien voulu nous accueillir dans les stations maritimes qu'ils dirigent respectivement. Nous les assurons de notre vive et respectueuse reconnaissance. M. COZIC, le dévoué et compétent gardien du Laboratoire de Roscoff a également droit à nos remerciements pour la complaisance dont il a toujours fait preuve à notre égard.

M^{lles} R. DE RORTHAYS et F. GUEYLARD nous ont maintes fois apporté une précieuse collaboration. Qu'elles veuillent bien accepter nos hommages reconnaissants.

Nous associerons à nos remerciements M. CASSAS, le complaisant secrétaire de l'Institut Océanographique de Paris, dont l'obligeance nous a été précieuse au cours de nos recherches.

M. le Professeur JOUBIN, membre de l'Institut, Professeur au Muséum et à l'Institut Océanographique nous a fait l'honneur de publier notre travail dans les *Annales de l'Institut Océanographique*. Nous le prions de croire à nos sentiments de respectueuse gratitude.

PREMIÈRE PARTIE

LA CONCENTRATION MOLÉCULAIRE

CHAPITRE PREMIER

Exposé général de notre travail

Historique

I. — Animaux adaptés et animaux non adaptés aux changements de salinité

Les êtres aquatiques vivent soit dans l'eau douce des cours d'eau et des lacs, soit dans l'eau salée des mers et des océans et, en général, les organismes habitant un de ces deux milieux ne se rencontrent jamais dans l'autre. Nous savons en effet que la plupart des animaux d'eau douce succombent rapidement dans l'eau de mer et que, de même, les êtres marins ne survivent pas à leur transfert dans l'eau douce. Pour la très grande généralité des animaux aquatiques, une condition indispensable au maintien de leur existence est une fixité plus ou moins rigoureuse de la teneur en sels de leur milieu extérieur. Cette condition doit être réalisée pour bon nombre d'entre eux d'une manière très approchée. On leur donne le nom de *Sténohalins*. Ils ne supportent sans périr que des variations peu étendues de la salinité du liquide qui les entoure. C'est ainsi que se comportent en général les poissons de la haute mer et surtout les Céphalopodes. Les autres, au contraire, peuvent être entourés impunément par une eau dont la teneur en sels diffère plus ou moins de celle de leur habitat normal. Ce sont les *Euryhalins*. Comme exemple de ceux-ci, on peut citer les animaux côtiers ou vivant au voisinage de l'embouchure des cours d'eau. Tels sont le Mulet, la Plie, le Crabe vert.

Au cours des périodes géologiques, la teneur en sels de certaines mers a été lentement modifiée et seuls les animaux euryhalins ont pu survivre en s'adoptant aux nouvelles conditions de salinité. Autrefois, par exemple, la Baltique communiquait largement avec l'Océan et possédait à peu près la même concentration saline. Sa faune était uniquement marine. Aujourd'hui cette mer n'est plus en rapport avec l'Océan que par un étroit passage, le Sund. Sous l'influence de l'eau douce déversée en abondance par de grands fleuves, la Baltique s'est dessalée progressivement. Une partie de sa faune marine a été remplacée par des organismes d'eau douce. La salinité de cette mer diminue depuis les côtes du Danemark jusqu'au fond du golfe de Bothnie. Devant Stokholm il n'y a que 4 g. de sels par litre et, un demi-gramme seulement devant Tornea. Il en résulte que sur les côtes danoises la faune se compose uniquement d'êtres marins parmi lesquels on rencontre beaucoup de Sténohalins. Dans le bassin moyen de cette mer, par contre, seuls les Euryhalins ont survécu, mais

dans le golfe de Bothnie on ne trouve plus que des espèces d'eau douce comme des Planorbes et même des Grenouilles. Autrefois cependant des êtres marins peuplaient cette région. Si, par exemple, les Huitres ont disparu, elles existaient encore dans les temps préhistoriques, car on a retrouvé leurs coquilles au milieu de débris provenant de l'âge de la pierre polie. Ces Mollusques, quoique nettement euryhalins n'ont pu survivre à une variation aussi considérable de la salinité qui, primitivement égale à celle de l'eau des Océans n'est plus guère maintenant que celle de l'eau douce.

La mer Caspienne présente aussi une salinité très variable d'une région à une autre. Il en résulte que, comme celle de la Baltique, sa faune n'est pas homogène, mais se compose d'espèces marines et d'espèces d'eau douce.

Des conditions de salinité analogues à celles de la Baltique se trouvent reproduites sur une plus petite étendue à l'embouchure des cours d'eau, où se tiennent les Euryhalins. Ainsi PLATEAU raconte avoir pêché des Chevrettes dans l'Escaut jusqu'à Anvers et L. FRÉDÉRICQ dans les fosses à eau saumâtre de Laber, près de Roscoff, a pris d'un même coup de filet des Crabes verts et des Grenouilles.

Ces différents exemples montrent que certains animaux peuvent supporter des variations assez notables de la salinité de leur milieu extérieur mais, dans la plupart des cas cette faculté n'est pas exaltée au point de permettre à l'animal de pouvoir passer de l'eau de mer à l'eau douce ou inversement. En général, les êtres aquatiques restent pendant toute leur vie dans le même milieu, eau de mer ou eau douce. Un très petit nombre d'entre eux cependant font exception et émigrent à certaines périodes de leur existence d'un milieu dans un autre. C'est ainsi que quelques poissons de mer viennent pondre dans les cours d'eau (Saumon, Alose, Lamproie). Ce sont les *Anadrômes*. D'autres au contraire quittent les eaux douces pour aller frayer en mer. Ce sont les *Catadrômes*. L'exemple le plus connu de ceux-ci est l'Anguille. Ces poissons sont donc, au moins à certaines périodes de leur vie, si bien adaptés aux changements de salinité, qu'ils peuvent passer de l'eau douce à l'eau de mer et inversement sans qu'il en résulte pour eux des conséquences funestes.

Cette propriété est également possédée par quelques autres animaux aquatiques, comme l'Epinoche, bien qu'aucune nécessité biologique ne les entraîne à changer de milieu au cours de leur existence. Ils naissent, vivent, se reproduisent et meurent dans les mêmes eaux. A la différence de la majorité des autres êtres aquatiques, la concentration du liquide qui les entoure leur est indifférente dans une très grande mesure. Aussi ces espèces se rencontrent-elles dans des eaux de salinité très variée. L'Epinoche, par exemple, vit principalement dans les ruisseaux mais elle se trouve souvent dans l'eau saumâtre des estuaires (1) et même dans les mares salées de Lorraine (2). Un autre exemple de poisson n'ayant pas d'habitat de salinité bien déterminée est fourni par le *Fundulus*, Téléostéen de l'Amérique du Nord.

Nous voyons en résumé que l'on peut classer les êtres aquatiques en plusieurs catégories, d'après leur tolérance aux variations de salinité.

1^o Animaux vivant dans un milieu de salinité déterminée et constante.

Ce sont les *Sténohalins*;

(1) Par exemple à Vimereux, dans les fossés de Laber à Roscoff (BORCEA), sur le pourtour du bassin d'Arcachon (MOREAU). La nature du milieu servant d'habitat au poisson influe sur la morphologie de ce dernier. Ainsi les Epinoches de Roscoff vivant dans l'eau saumâtre sont plus petites que celles que l'on pêche habituellement dans les ruisseaux d'eau douce. Celles des mares de Lorraine, par contre, sont sensiblement plus grandes.

(2) FLORENTIN.

2^o Animaux tolérant une variation plus ou moins notable de la concentration de leur milieu extérieur.

Ce sont les *Euryhalins*.

Ils se subdivisent à leur tour d'après l'amplitude des variations de salinité compatibles avec le maintien de leur vie :

a) Espèces ne pouvant passer de l'eau de mer à l'eau douce ou inversement.

b) Espèces pouvant passer de l'eau de mer à l'eau douce et inversement.

Cette dernière catégorie comprend :

D'une part, les poissons migrateurs que des nécessités biologiques entraînent à certaines périodes de leur vie, soit de l'eau de mer dans l'eau douce : *Anadrômes*, soit de l'eau douce dans l'eau de mer : *Catadrômes*.

D'autre part, des animaux qui ne subissent pas de migrations, mais qui cependant peuvent vivre dans des milieux de salinité très différente : eau douce, eau saumâtre, eau de mer, même eau de mer sursalée.

II. — Historique

La classification précédente repose à la fois sur l'observation et sur l'expérience car, depuis très longtemps, l'homme a cherché, soit par intérêt, soit par simple curiosité, à faire vivre des êtres aquatiques dans un milieu liquide différent de celui qui les entoure habituellement. Les Anciens ont fait dans cette voie de nombreux essais si l'on en croit COLUMELLE. Il raconte que l'on peuple de Mules, de Chiens de mer, de Bars, de Daurades les lacs d'eau douce de l'Etrurie et que, dans les fossés marécageux de la côte du Latium, il est facile d'élever des Soles, des Plies, des Turbots et même des coquillages comme les Palourdes, les Huîtres et les Pourpres. Si peu vraisemblables que paraissent les faits rapportés par l'auteur latin, on peut cependant en conclure que les Anciens ont cherché à acclimater les animaux marins à l'eau douce. Les Modernes ont suivi leur exemple et des tentatives plus ou moins suivies de succès ont été réalisées à l'époque contemporaine. On les trouvera mentionnées dans le livre de REGNARD et nous ne nous y attarderons pas davantage, préférant passer en revue les recherches scientifiques effectuées sur cette intéressante question.

BEUDANT, en 1816, cherche à faire vivre des êtres aquatiques dans une eau de salinité différente de celle qu'ils habitent ordinairement. Les expériences portent sur les Mollusques d'eau douce qu'il place dans l'eau mer et sur les Mollusques d'eau de mer qu'il transporte dans l'eau douce. A la suite de ce transfert, les animaux mouraient très rapidement, la survie n'excédant pas quelques jours. Pour quelques espèces seulement cette survie put être prolongée en rendant progressif le changement de concentration du milieu extérieur de l'animal en expérience.

PAUL BERT étendit les recherches de BEUDANT aux Vertébrés et chercha surtout à élucider les causes de la mort par modification de la salinité. De l'observation des symptômes qui accompagnent cette mort, il déduit que l'augmentation de la salinité provoque la mort par deux mécanismes différents : « Elle a lieu chez les animaux dont le corps est recouvert d'un mucus protecteur par une action exosmotique sur les branchies dont l'épithélium devient opaque, où la circulation sanguine s'arrête. Chez les animaux sans mucus, comme la Grenouille, l'exosmose a pour conséquence une dessiccation de l'animal qui périt après avoir perdu un

quart ou un tiers de son poids (1). On peut drainer et tuer une Grenouille en plongeant simplement une de ses pattes dans l'eau de mer ». De même l'eau douce tue les animaux marins par endosmose exagérée, gonflant les branchies des poissons où la circulation s'arrête et aussi celles des Mollusques et des Annélides, rendant opaques les épithéliums transparents, supprimant la contractibilité des chromatophores des Céphalopodes, des muscles des Annelides. PAUL BERT attribue donc la mort par modification de la salinité extérieure aux phénomènes osmotiques qui agissent soit directement en augmentant ou diminuant la teneur en eau de l'organisme, soit indirectement en provoquant l'asphyxie par altération de l'épithélium branchial. Les recherches plus récentes n'ont fait que confirmer ces conclusions et c'est véritablement à PAUL BERT que revient le mérite de les avoir dégagées. Il chercha dans quelles limites de salinité pouvait se maintenir la vie des différents animaux aquatiques. Il constata que l'acclimatation des poissons marins est assez facile jusqu'à une diminution du tiers de la salure de l'eau de mer. Au delà la mort survient rapidement. Pour les animaux d'eau douce le degré de salure plus ou moins promptement mortel correspond au tiers de celui de l'eau de mer. On peut assez aisément les amener à vivre dans l'eau progressivement salée jusqu'à un degré de salure un peu supérieur à la moitié de celui de l'eau de mer. Au cours de ses recherches, PAUL BERT fut amené à faire plusieurs observations intéressantes. C'est ainsi qu'il découvrit fortuitement le rôle du mucus dans l'adaptation de l'Anguille aux changements de salinité. D'autre part, ayant voulu acclimater des Daphnies à l'eau salée, il constata que, quand le liquide dans lequel elles vivaient, était arrivé à un degré de salure correspondant au tiers de celui de l'eau de mer, elles mouraient toutes rapidement mais, quelques jours plus tard, PAUL BERT vit apparaître, à sa grande surprise, des nouvelles Daphnies. Elles provenaient des œufs de celles qui étaient mortes. Il y a ainsi acclimatation non dans l'individu, mais dans l'espèce. Fait curieux, ces Daphnies d'eau saumâtre mouraient quand on les plaçait dans l'eau douce, qui est pourtant bien l'élément dans lequel vit leur race.

Bien que PAUL BERT n'ait pas étudié le milieu intérieur, nous avons exposé assez longuement ses recherches car nous y reviendrons plusieurs fois au cours de cet ouvrage et elles résolvent si bien le problème des causes de la mort par changement de salinité, que cette question ne sera plus guère étudiée, les conclusions de PAUL BERT paraissant définitives.

Avec les travaux de LÉON FRÉDÉRICQ, nous assistons pour la première fois à l'étude des propriétés du milieu intérieur en fonction de celles du liquide entourant l'animal. Les recherches de ce physiologiste marquent une nouvelle orientation dans l'étude des êtres aquatiques. Dès 1882 il détermine l'influence du milieu ambiant sur la composition minérale du sang. Il constate que la teneur en substances salines du sang des Crustacés est voisine de celle de l'eau de mer qui entoure l'animal, quoique sensiblement inférieure à celle-ci. Au contraire, le milieu intérieur des animaux d'eau douce est notablement plus riche en sels que le milieu extérieur. Ayant récolté des *Carcinus mænas* (2) soit dans de l'eau de mer normale, soit dans l'eau saumâtre des bouches de l'Escaut, il vit que la quantité de substances minérales du sang de ces Crustacés dépendait de celle du milieu ambiant. Elle diminue avec celle-ci mais moins

(1) CHOSSAT déshydratait une Grenouille en la plaçant sous une cloche de verre avec du chlorure de calcium. Des troubles profonds apparaissent dans les principales fonctions organiques et la mort survient lorsque l'animal a perdu 35 % de son poids. (Cité par Cl. BERNARD.) En rapprochant ce résultat de celui de P. BERT, on voit que la perte de poids au moment de la mort est sensiblement la même. C'est donc bien la déshydratation qui en est la cause et il importe peu qu'elle soit produite par exosmose ou par dessiccation dans une atmosphère privée de vapeur d'eau.

(2) Ce sont des animaux euryhalins, comme nous l'avons déjà dit.

vite. Il en résulte que le sang de l'animal qui est presque aussi riche en sels que le milieu externe quand celui-ci est constitué par de l'eau de mer, en contient notablement plus que lui quand ce milieu est de l'eau saumâtre. Il détermina la teneur en sels du sang des poissons osseux et cartilagineux. Il la trouva très inférieure à celle de l'eau de mer. Les Plagiostômes par exemple n'en possèdent, dans leur sérum, qu'une quantité à peine égale à la moitié de celle contenue dans le même volume d'eau de mer. A l'inverse de ce qu'il avait constaté pour les Crustacés, la composition du sang des Téléostéens est indépendante de la salinité externe. L. FRÉDÉRICQ ne se borne pas à l'étude du sang et il fait porter ses déterminations sur les tissus. Le fait qui s'en dégage c'est que les tissus des animaux d'eau douce et des animaux marins contiennent à peu près la même quantité de substances salines, contrairement à ce que l'on observe pour le sang.

Vers 1895, l'usage du cryoscope commence à se répandre en physiologie. WINTER l'introduit dans l'étude du sang des Mammifères et du suc gastrique et BOTTAZZI, en 1897, dans un travail bien connu : « La pression osmotique du sang des animaux marins », l'utilise pour découvrir quelles relations existent entre la pression osmotique du milieu intérieur et celle du milieu extérieur des organismes vivant dans la mer. Nous reproduisons ici les conclusions mêmes du physiologiste italien car elles forment la base de nos connaissances sur cette question :

« En résumé, il résulte de nos recherches :

1° Que les Invertébrés marins présentent une pression osmotique de leurs liquides internes, sans exception égale à celle de l'eau de mer;

2° Que parmi les Vertébrés marins les poissons cartilagineux se trouvent dans les mêmes conditions;

3° Que les Vertébrés supérieurs jouissant de la respiration aérienne, bien que vivant continuellement dans la mer présentent une pression osmotique de leur sang tout à fait indépendante de celle de l'eau de mer et approximativement égale à celle du sang des Vertébrés terrestres supérieurs;

4° Que chez les Téléostéens commence à apparaître l'indépendance dans laquelle se trouvent les conditions osmotiques des liquides de l'organisme par rapport à celles du milieu extérieur puisqu'ils présentent une pression osmotique de leur sang inférieure d'environ la moitié à celle de l'eau de mer, et intermédiaire entre celle-ci et celle du sang des Vertébrés supérieurs terrestres. »

A Arcachon, RODIER fait des déterminations analogues en ce qui concerne les poissons. Il trouve, comme BOTTAZZI que le sang des Sélaciens est très sensiblement isotonique avec l'eau de mer entourant le poisson. Comme le point de congélation de l'eau de mer de Naples est différent de celui de l'eau d'Arcachon (— 2°29 et — 1°85) il en conclut que la pression osmotique du sang des Sélaciens n'est pas constante, mais dépend de celle du milieu extérieur. Nous avons vu que L. FRÉDÉRICQ avait trouvé que le sang des Plagiostômes était bien moins riche en sels que l'eau de mer. Pourtant les mesures de BOTTAZZI et de RODIER montrent que les pressions osmotiques sont les mêmes. Ce fut RODIER qui expliqua ce désaccord apparent que L. FRÉDÉRICQ avait remarqué sans pouvoir en donner la cause. Il rappela que SCHRÖDER avait trouvé une très forte proportion d'urée dans le sang des Sélaciens. Cette quantité d'urée égalise par sa concentration moléculaire la pression osmotique du sang avec l'eau de mer, les substances minérales étant en quantités insuffisantes pour obtenir ce résultat à elles seules. RODIER examina le sang de plusieurs Téléostéens et ne put vérifier la relation indiquée par BOTTAZZI, à savoir que la pression osmotique du sang de ces poissons était la

moitié de celle de l'eau de mer. RODIER la trouva bien inférieure à celle résultant de ce rapport. Enfin RODIER, qui dosait le chlorure de sodium en même temps qu'il prenait le point cryoscopique, constata qu'une certaine partie de la pression osmotique du sang n'était pas due au Na Cl.

Jusqu'à cette époque, on n'avait guère étudié que le milieu intérieur des animaux normaux. Si l'on excepte quelques expériences de L. FRÉDÉRICQ, on n'avait pas cherché comment varie le milieu intérieur des différents animaux aquatiques quand on modifie la salinité du liquide entourant l'animal. C'est ce travail que QUINTON entreprit. L'idée directrice de ce physiologiste était de démontrer que le milieu intérieur de presque tous les animaux présente, au point de vue minéral, la plus grande analogie avec l'eau de mer (1), la caractéristique de ce liquide étant de contenir une proportion très forte de chlorure de sodium. QUINTON est amené à doser cette substance dans le milieu vital d'un grand nombre d'animaux. Ses déterminations sur les Invertébrés marins l'amènent à la conclusion que leur milieu intérieur contient toujours à très peu près la même quantité de chlore que l'eau de mer qui les entoure et il pense que si L. FRÉDÉRICQ a trouvé au contraire que le sang des Crustacés et des Mollusques Céphalopodes contenait systématiquement moins de substances salines que l'eau de mer externe, la cause en était dans une volatilisation accidentelle de ces substances au cours de l'analyse. Ayant constaté cette identité de teneur en chlorure de sodium, QUINTON voulut voir si elle résultait d'un équilibre osmotique. Pour vérifier cette supposition, il modifia la salinité de l'eau entourant les animaux. Une nouvelle série de dosages lui montra que la teneur du sang se modifiait parallèlement à celle de l'eau de mer afin de lui rester égale. Il établit que cette modification résultait à la fois d'un passage d'eau et d'un passage de sels à travers la paroi extérieure de l'Invertébré et QUINTON conclut en disant que « La paroi extérieure de l'Invertébré marin est, par excellence, une membrane dialysante et que l'Invertébré marin élevé, fermé anatomiquement au milieu extérieur lui est ouvert osmotiquement. » QUINTON pensait que si sa théorie marine du milieu intérieur s'appliquait aux Invertébrés d'eau douce, il était nécessaire, pour le maintien de ce milieu, que ces animaux ne soient pas en communication osmotique avec l'eau douce extérieure. C'est ce qu'il entreprit de vérifier mais la petite taille de ces Invertébrés l'obligea à ne faire porter ses recherches que sur un très petit nombre d'espèces.

Il constata d'abord, conformément à ses prévisions, « qu'à l'état de nature, dans le milieu presque totalement dessalé où il vit, l'Invertébré d'eau douce maintient intérieurement un milieu vital à taux salin élevé, constant et spécifique. » De plus le rapport de la quantité de Na Cl à la quantité totale de substance minérale est à peu près le même que celui qui caractérise l'eau de mer. Ayant placé des Ecrevisses dans de l'eau plus ou moins salée, il n'observa que des variations très faibles de la teneur en chlorure de sodium du sang. Cette fixité du milieu vital montre clairement, selon QUINTON, qu'il n'est pas en communication osmotique avec le liquide extérieur. Ainsi se trouvent confirmées les hypothèses de l'auteur. Cependant une recherche analogue effectuée sur l'Anodonte lui montra que cet animal ne contenait pas, dans son hémolymphe, plus de chlorure de sodium que l'eau douce et que, d'autre part, cette hémolymphe était en relation osmotique avec le milieu extérieur puisqu'elle subissait des variations de teneur en Na Cl identiques à celles du liquide ambiant. D'après QUINTON, tout organisme dont le milieu vital n'est pas marin ne peut avoir qu'une vie ralentie et il pensa qu'il en était ainsi de l'Anodonte qui vit dans des eaux peu oxygénées, hiverne et estive en s'enfonçant dans la vase.

(1) A la dilution près, bien entendu.

QUINTON étendit ensuite ses recherches aux Vertébrés. Il détermina la quantité de chlorure de sodium contenue dans le sang de poissons marins et d'eau douce. Il montra ensuite que, tandis que le Téléostéen marin n'est pas en communication osmotique avec le milieu extérieur (il ne varie pas de poids quand on dilue l'eau de mer qui le baigne), le Sélacien, au contraire, est en relation osmotique avec son milieu extérieur. En modifiant la salinité de l'eau de mer on fait varier dans de très grandes limites le poids du poisson et la teneur en Na Cl de son sang.

Comme on le voit, les recherches de QUINTON ont porté sur un grand nombre d'espèces d'animaux aquatiques, tant Vertébrés qu'Invertébrés, marins et d'eau douce. En fait, c'est le premier travail de physiologie comparée ayant pour but de déterminer comment se modifie le milieu intérieur des êtres aquatiques quand on fait varier la salinité du liquide les entourant. Certes, ce travail contient quelques inexactitudes, la méthode de dosage du chlore n'est pas très précise, mais le grand mérite de ce physiologiste est d'avoir attiré l'attention sur une question qui n'avait été qu'à peine effleurée jusqu'à cette époque, et surtout de l'avoir débrouillée dans ses grandes lignes.

Les résultats des travaux de BOTTAZZI et de RODIER sur la pression osmotique du sang des animaux vivant à l'état de nature, ceux de QUINTON que nous venons d'exposer, sont bientôt confirmés par L. FRÉDÉRICQ qui, en 1901, entreprend une nouvelle série de recherches. Au lieu de déterminer, comme dans ses études précédentes, la teneur en substances minérales, il mesure la pression osmotique à l'aide du cryoscope. Il constate à son tour que le milieu vital des Invertébrés marins est toujours à très peu près isotonique avec l'eau de mer, que celle-ci soit normale ou, au contraire diluée ou concentrée, et que le nouvel équilibre s'établit plus ou moins rapidement entre le sang et l'eau de mer dont on a modifié la salinité. Il remarque que le *Carcinus mænas* est particulièrement lent à réaliser l'équilibre de son milieu intérieur. Il conclut que chez les Invertébrés marins étudiés, l'organisme est perméable à l'eau et aux sels dissous (1). La branchie paraît perméable à l'eau, mais il n'est pas prouvé qu'elle le soit partout aux sels. Il est possible que chez certaines espèces, les substances dissoutes pénètrent dans le sang par la voie intestinale. L. FRÉDÉRICQ avait trouvé dans ses premières recherches que le sang des Crustacés et Céphalopodes contenait moins de substances minérales que l'eau de mer. QUINTON avait infirmé cette conclusion. L. FRÉDÉRICQ détermine à nouveau la teneur en substances salines du sang de ces Invertébrés et confirme ses résultats antérieurs. Ainsi donc le sang des Invertébrés supérieurs est moins riche en sels que l'eau de mer et cependant les surfaces d'échanges de ces organismes sont perméables à l'eau et aux sels. Ces faits paraissent en contradiction. Pour l'éclaircir, L. FRÉDÉRICQ dialyse ce sang contre l'eau de mer qui entourait l'animal. Il constate que la teneur en sels du sang ne subit pas de modification. La différence subsiste. Le sang, malgré sa teneur plus faible en substances minérales est en équilibre de diffusion vis-à-vis de l'eau de mer. Il vérifie ce fait pour le sang de *Maia squinado* — *Maia verrucosa* — *Octopus vulgaris*. L. FRÉDÉRICQ entreprend l'étude de ce phénomène physico-chimique. Il se demande comment il faut entendre la concentration moléculaire d'une solution contenant à la fois de l'albumine et un sel. Les molécules du sel doivent-elles être considérées comme réparties dans le volume total de la dissolution ou seulement dans l'eau? Pour résoudre cette question il détermine comparativement le point de congélation 1° de mélanges de solutions d'albumine et de solutions salines; 2° de mélanges de mêmes proportions d'eau et de mêmes solutions salines. Il constate qu'en ajoutant du chlorure ou du nitrate de sodium, ou de l'urée, à une solution d'ovalbumine, l'abaissement du point de

(1) Nous avons vu que QUINTON était arrivé à la même conclusion.

congélation qui en résulte, présente une valeur correspondant à la répartition des molécules du sel ou de l'urée, non dans le volume total de la solution, mais dans un volume plus petit. La différence correspond à peu près au volume occupé par l'albumine. Autrement dit, tout se passe au point de vue de la concentration moléculaire comme si le sel se dissolvait uniquement dans l'espace occupé par l'eau de la solution. Il en résulte que deux solutions salines dont l'une contient de l'albumine pourront présenter la même concentration moléculaire et se trouver en équilibre osmotique, quoique la solution albumineuse contient, dans le même volume, moins de sels que l'autre solution. C'est justement le cas du sang des Invertébrés supérieurs. Ainsi se trouve expliqué ce fait, en apparence paradoxal, à savoir que le sang est en équilibre de diffusion avec l'eau de mer tout en étant moins riche en substances minérales.

L. FRÉDÉRICQ étudie ensuite les Sélaciens. Il remarque que si le milieu intérieur de ces poissons est en équilibre osmotique avec l'eau de mer, il n'est pas, par contre, en équilibre de diffusion puisqu'il contient beaucoup moins de substances minérales que l'eau de mer et, en plus, une forte dose d'urée dont le milieu extérieur ne contient pas trace. Il semble donc que les surfaces d'échanges entre le milieu extérieur et le milieu intérieur laissent passer l'eau pour permettre l'équilibre isotonique mais ne se laissent pas traverser par les substances dissoutes, sels et urée. Ces surfaces se comportent donc comme si elles étaient constituées par des membranes semi-perméables. L. FRÉDÉRICQ entreprend quelques expériences qui confirment cette manière de voir; Il transporte des *Scylliums* dans de l'eau de mer diluée ou concentrée. Il constate que la concentration du sang se modifie de manière à ce que ce liquide redevienne isotonique avec le milieu extérieur. Ce nouvel équilibre s'établit uniquement par mouvement d'eau car l'analyse chimique montre que les proportions relatives de sels et d'urée ne varient pas.

L. FRÉDÉRICQ détermine le point de congélation de quelques Téléostéens marins et de quelques animaux d'eau douce. Il avait d'ailleurs consacré quelques années auparavant une étude spéciale à l'Écrevisse.

De ses différents travaux L. FRÉDÉRICQ en tire une classification du milieu intérieur des êtres marins. Il distingue trois cas :

A) Le milieu intérieur (sang, hémolymph) présente la même concentration moléculaire et, approximativement, la même teneur saline (rapportée non à un même volume de liquide mais à un même poids d'eau) que le milieu extérieur (eau de mer) dans lequel vit l'animal.

C'est le cas des Invertébrés marins.

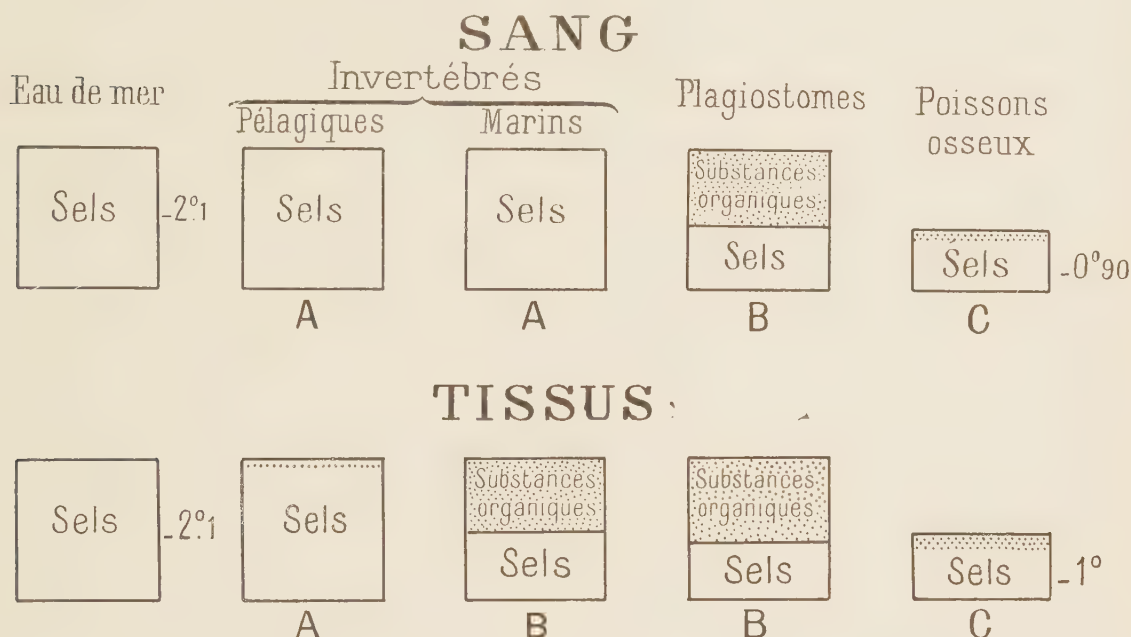
B) Le sang ou milieu intérieur présente la même concentration moléculaire que l'eau de mer dans laquelle l'animal vit, mais sa teneur en sels est beaucoup plus faible que celle de l'eau de mer : le complément de concentration moléculaire est atteint grâce à la présence de substances organiques dissoutes dans le sang. Sang des poissons Plagiostômes.

C) Le sang présente une concentration moléculaire et une teneur saline très différentes de celles de l'eau extérieure.

Sang des poissons osseux tant marins que d'eau douce. Sang des Invertébrés d'eau douce, notamment de l'Écrevisse.

L. FRÉDÉRICQ détermine également la concentration moléculaire des tissus des animaux marins normaux. Il utilise plusieurs méthodes : Cryoscopie directe du tissu d'après la méthode de Sabattani ou du liquide provenant de la coction en vase clos de l'organe, recherche de la solution qui ne fait subir aucune variation de poids au tissu que l'on immerge dedans. A la suite de cette étude, L. FRÉDÉRICQ partage les tissus en trois groupes : A, B et C, comme le sang. Il voit que les tissus des Invertébrés et des Sélaciens sont à peu près isotoniques avec

l'eau de mer, comme le sang, mais tandis que la pression osmotique de ce sang est due uniquement à des matières minérales, au contraire celle des tissus est, chez un grand nombre d'Invertébrés, produite en partie par des substances organiques. Alors que le sang est au stade A, les tissus sont au stade B. Il n'y a guère que les tissus transparents et très aqueux des animaux pélagiques qui doivent toute leur concentration moléculaire à des sels. L. FRÉDÉRICQ résume les résultats de ses recherches dans un graphique que nous reproduisons ci-dessous.



Concentration moléculaire du Sang et des Tissus des animaux marins d'après L. FRÉDÉRICQ.

L. FRÉDÉRICQ étend ensuite ses recherches aux animaux d'eau douce. Il trouve que la concentration de leurs tissus est notablement supérieure à celle du liquide ambiant. La différence entre les points de congélation du tissu ou du suc de coction et l'eau douce est de 0°10 à 0°20 pour les Mollusques, de 0°40 pour les Annelés (Sangsue), plus forte encore pour les Articulés (Ecrevisse, 0°80) et les Vertébrés (de 0°40 à 0°80).

En Amérique, GARREY, en 1905, détermine à son tour la pression osmotique du sang de quelques animaux marins, dont certaines espèces sont propres à l'Amérique. Il confirme simplement les résultats des physiologistes européens. J. LÆB étudie l'influence de la concentration et de la nature des substances dissoutes sur la survie des êtres aquatiques. Il découvre le rôle antagoniste des cations mono et polyvalents. Il montre que les solutions de chlorure de sodium pur sont toxiques pour les animaux aquatiques, mais que cette toxicité est notablement diminuée par addition de sels de métaux bivalents, Calcium et Magnésium ou même Zinc. Pour un certain rapport des quantités des divers cations, la solution présente une toxicité minima. Ce rapport est justement celui qui est réalisé dans l'eau de mer. A la suite des travaux de LÆB, la question de l'antagonisme des sels va être étudiée, tant au point de vue physiologique que physico-chimique par un grand nombre d'expérimentateurs (JOSEPH and MELTSE, OSTWALD, OSTERHOUT, etc....) Nous n'insisterons pas davantage sur ces différents travaux qui ne concernent pas directement le milieu intérieur.

En 1910, M. PHILIPPSON, G. HANNEVART et J. THIEREN font paraître un mémoire sur l'adaptation de l'Anodonte à l'eau de mer. Ils constatent d'abord que cette adaptation est plus facile en hiver qu'au printemps et que, si les solutions de chlorure de sodium sont relativement très toxiques pour les Anodontes, en revanche les solutions contenant tous les sels de l'eau de mer sont beaucoup mieux tolérées. Ils mesurent la pression osmotique et la conductibilité électrique du liquide extérieur et des extraits à la presse des animaux réduits à l'état de pulpe. Leurs conclusions sont les suivantes : Le point de congélation des Anodontes normales est assez variable d'un individu à un autre, en moyenne de $-0^{\circ}20$. Lorsque l'on augmente la concentration du liquide ambiant, celle des extraits ne varie pour ainsi dire pas tant que cette concentration externe n'atteint pas celle de l'Anodonte normale mais, dès que ce résultat est réalisé, la concentration du Mollusque augmente de façon à se maintenir supérieure d'environ $0^{\circ}08$ à celle du milieu environnant. Par contre, la conductibilité électrique des extraits est toujours inférieure à celle de l'eau salée extérieure. Les auteurs en concluent qu'une partie seulement de la pression osmotique des extraits est produite par des sels minéraux, le reste étant attribuable à des corps organiques. Ils calculent que, pour l'animal vivant à l'état de nature, le Δ de $-0^{\circ}20$ se répartit en $-0^{\circ}08$ pour les substances salines et $-0^{\circ}12$ pour les matières organiques. Ils montrent en outre que ces substances organiques augmentent avec la salinité extérieure. Ainsi, quand le milieu ambiant contient 16% de chlorure de sodium, le Δ organique des extraits s'élève à $-0^{\circ}30$. Il est regrettable, à notre avis, que les auteurs n'aient pas fait une étude aussi précise du sang de l'Anodonte. Ils n'ont fait qu'un très petit nombre de mesures de sa conductibilité électrique qui leur ont montré que le sang était plus riche en sels que les extraits, sans toutefois l'être autant que le milieu extérieur.

M. PHILIPPSON et ses collaborateurs montrent que l'Anodonte est perméable à l'eau et aux sels, que par exemple, l'animal laisse sortir les substances minérales qui ont pénétré dans son milieu intérieur. Ce phénomène est un phénomène de diffusion car il n'est accompagné que d'une variation légère et passagère de poids. On peut alors se demander comment l'Anodonte, perméable aux sels dans les deux sens, conserve à l'état normal la quantité de substances minérales qui lui est indispensable.

CALUGAREANU, en 1915, cherche à pénétrer le mécanisme de cette rétention. Il mesure d'abord la concentration moléculaire du sang de l'Anodonte normale, ce que n'avait pas fait PHILIPPSON, et sa conductibilité électrique. Cette concentration se traduit par un Δ de $-0^{\circ}115$. Il montre ensuite que l'inanition prolongée a pour effet de diminuer cette concentration. Il l'explique en disant que, normalement, les cristalloïdes du sang diffusent dans le milieu extérieur, mais sont remplacés par ceux qui s'absorbent dans l'intestin. Dans l'inanition, ces pertes dues à la diffusion ne sont plus compensées puisqu'il n'y a plus absorption digestive. Celle-ci aurait donc un rôle marqué dans le maintien de la pression osmotique. Le sang d'Anodontes conservées à sec dans l'air humide d'un excicateur se concentre lentement. Le Δ peut s'abaisser jusqu'à $-0^{\circ}17$. De même, la conductibilité augmente. Ce résultat s'explique d'après CALUGAREANU, par le fait que les substances provenant du métabolisme des tissus s'accumulent dans le sang faute de pouvoir diffuser dans le milieu extérieur à travers les membranes. L'excrétion de l'animal n'est d'ailleurs nullement empêchée pendant l'expérience. Elle se produit à la partie postérieure des valves. Comme on le voit, le maintien d'une certaine quantité de substances diffusibles dans le sang de ce Mollusque résulterait, d'après CALUGAREANU, d'un équilibre entre les substances diffusant dans le milieu extérieur et celles qui s'absorbent dans l'intestin ou qui proviennent des échanges nutritifs des tissus.

GARREY (1915) étudie l'influence de quelques solutions sur la vie d'un poisson de l'Amé-

rique du Nord, non adapté aux changements de salinité, *Notropis blennius*. Il constate qu'à pression osmotique égale, l'eau de mer diluée est beaucoup moins toxique que les solutions de chlorure de sodium pur. L'étude de la survie de poissons placés dans des solutions pures de sels de différents métaux lui montre qu'à concentration moléculaire égale, les métaux se rangent dans l'ordre suivant, au point de vue de la toxicité : $K > Mg > Ca > Na$. Finalement il trouve que le *Notropis blennius* tolère une pression osmotique de son milieu extérieur égale à celle de son sang, à condition que ce milieu extérieur soit constitué par une solution contenant les différents sels dans un rapport convenable (solution équilibrée). Au delà de cette concentration qui est critique, la mort arrive promptement.

LÆB ET WASTENEYS (1915), concluent d'un travail sur *Fundulus*, que les solutions non équilibrées modifient davantage la pression osmotique totale de ce poisson que les solutions isotoniques bien équilibrées. Mais les résultats expérimentaux sur lesquels les auteurs s'appuient ne nous paraissent pas suffisamment probants pour autoriser une telle conclusion. Les différences observées d'un poisson à un autre conservé dans le même milieu sont en effet du même ordre de grandeur que celles observées en remplaçant les solutions équilibrées par des solutions isotoniques non équilibrées. A notre avis, de nouvelles expériences sont nécessaires pour bien étayer les conclusions de LÆB et WASTENEYS.

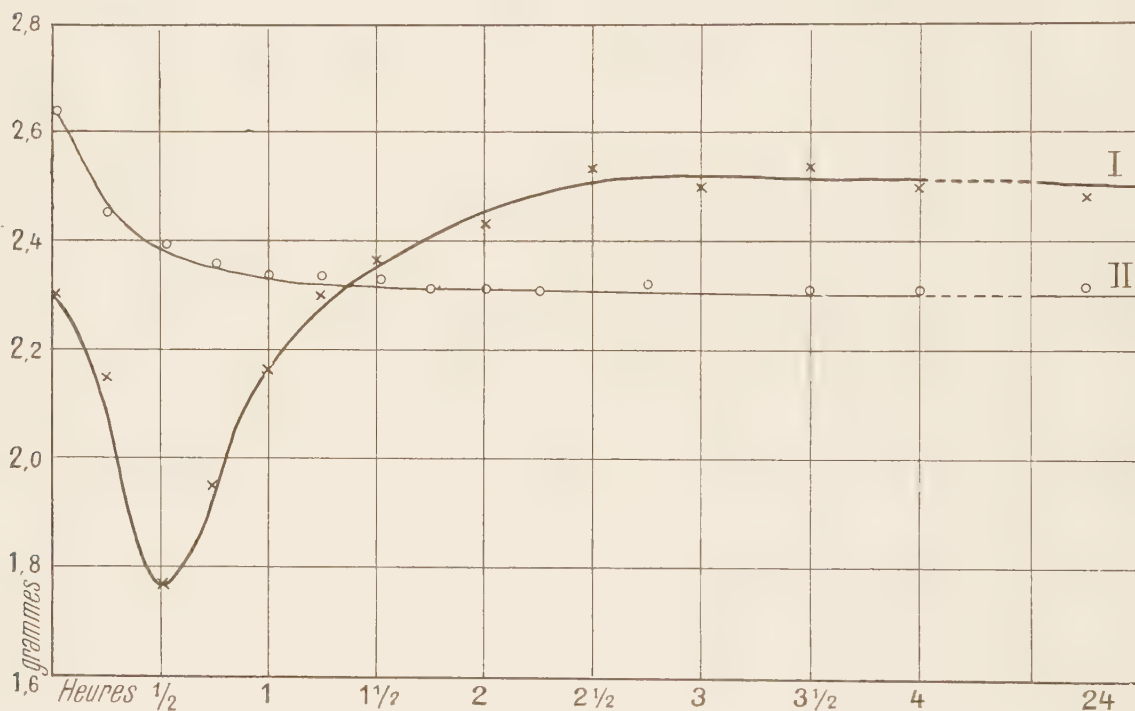
YOUNG, en 1923, étudie, comme GARREY, la toxicité de certains sels pour les poissons d'eau douce. Il trouve de grandes différences de survie non seulement d'un sel à un autre pris en solution isotonique, mais d'un poisson à un autre de la même espèce. Il constate qu'en moyenne la mort survient quand la pression osmotique du milieu extérieur atteint 6 atmosphères mais cette limite n'a rien de fixe. En particulier elle est plus élevée pour le chlorure de sodium, comme GARREY l'avait observé. YOUNG indique que la mort des poissons est due à la fois à la pression osmotique et à une action toxique propre à chaque sel. Il n'a pas étudié le milieu intérieur.

M^{lle} GUEYLARD fait paraître en 1924 les résultats d'un long travail sur l'adaptation aux changements de salinité. Elle utilise pour cette étude un poisson d'eau douce supportant le passage brusque dans l'eau de mer, *Gasterosteus leiurus* ou Épinoche. Cette remarquable propriété de ce poisson avait déjà été observée par plusieurs physiologistes. PAUL BERT, MILNE EDWARDS, SEMPER, FLORENTIN, GIARD avaient signalé successivement que l'Épinoche survivait après un transfert brusque dans l'eau de mer, mais tandis que PAUL BERT ou MILNE EDWARDS observaient des survies de un mois ou deux, FLORENTIN trouvait l'Épinoche à peine plus résistante que les autres poissons d'eau douce. M^{lle} GUEYLARD entreprend toute une série d'expériences pour découvrir les causes de cette divergence de conclusions. Elle détermine quels sont les différents facteurs qui facilitent ou entravent l'adaptation. Elle est ainsi amenée à rechercher l'influence de l'espèce étudiée, la saison des expériences, le degré de salinité de l'eau où vivaient auparavant les poissons, la température, les conditions dans lesquelles les animaux ont été maintenus avant les expériences. Toute modification de l'un de ces facteurs entraîne de grandes différences dans la survie du poisson et l'on comprend facilement que les physiologistes qui ont précédé M^{lle} GUEYLARD dans l'étude de cette question soient arrivés à des conclusions différentes faute d'observer tous dans des conditions identiques.

Le facteur saison est particulièrement important. C'est ainsi que des Épinoches qui, en décembre, survivaient plus de 10 jours dans de l'eau de $\Delta = - 0^{\circ}93$, mouraient en 38 heures au mois de juillet.

M^{lle} GUEYLARD étudie également l'influence de la composition chimique du liquide dans lequel on transporte le poisson. Comme LÖB, M. PHILIPPSON, GARREY et d'autres, elle constate qu'à concentration moléculaire égale, les solutions de chlorure de sodium dans l'eau distillée sont plus toxiques que les mêmes solutions équilibrées par des sels de métaux plurivalents. La solution dans l'eau de source est mieux supportée que celle qui est faite avec de l'eau distillée mais l'eau de mer diluée à la même concentration est encore moins toxique.

Ayant ainsi déterminé le plus exactement possible l'influence des divers facteurs qui conditionnent l'adaptation de l'Épinoche aux changements de salinité, M^{lle} GUEYLARD cherche à se rendre compte des échanges osmotiques qui se produisent entre l'animal et son milieu extérieur. Malheureusement l'Épinoche est un trop petit poisson pour que l'on puisse prélever une quantité de son sang suffisante pour permettre de déterminer son point cryoscopique. Il faut donc recourir à des méthodes indirectes. Elle en utilise deux : La pesée du poisson et la mesure du point de congélation des extraits à la presse du corps entier de l'animal. L'étude



Variations de poids, en fonction du temps, de poissons d'eau douce placés dans l'eau salée.

I. — Epinoche transportée de l'eau douce dans l'eau de mer ($\Delta = 2^{\circ}02$)

II. — Goujon transporté de l'eau douce dans l'eau de mer diluée ($\Delta = -0^{\circ}65$), d'après M^{lle} GUEYLARD.

des variations de poids en fonction du temps qui s'est écoulé depuis le moment où la salinité de l'eau a été modifiée, conduit M^{lle} GUEYLARD à une constatation inattendue. Ordinairement, quand on transporte un poisson d'eau douce dans de l'eau salée, le poids de l'animal diminue rapidement et régulièrement pour rester ensuite sensiblement constant, le poids final étant très sensiblement inférieur au poids du poisson dans l'eau douce (1). Chez l'Épinoche, le poids commence aussi par diminuer, mais très rapidement (au bout de 30 minutes environ) il

(1) Ce fait a été observé autrefois par Paul BERT. Il est maintenant classique.

remonte, dépasse sa valeur initiale et se maintient ensuite constant. Contrairement à ce que les notions classiques d'osmose font prévoir, le poids du poisson en équilibre d'échange avec l'eau salée est supérieur à celui qu'il possède dans l'eau douce (1). Pour donner une idée plus exacte de l'allure de ce phénomène, nous reproduisons une courbe de poids extraite de l'ouvrage de M^{lle} GUEYLARD.

Si maintenant on transporte dans de l'eau douce une Épinoche vivant dans de l'eau salée, on observe, dans l'ordre inverse, des variations pondérales analogues. D'abord le poids augmente comme le ferait celui d'un individu d'une autre espèce (Goujons, Gardons), mais brusquement la variation change de sens. Le poids diminue pour redevenir égal ou même inférieur à sa valeur primitive. Donc, que le poisson soit transporté de l'eau douce dans l'eau salée ou de l'eau salée dans l'eau douce, tout se passe comme si l'animal, subissant d'abord passivement les phénomènes osmotiques classiques, s'y opposait ensuite par la mise en jeu d'un mécanisme spécial grâce auquel son organisme conserve très sensiblement la même quantité d'eau qu'avant son transfert dans un milieu de salinité différente. M^{lle} GUEYLARD montre qu'un autre poisson adapté aux changements de salinité, l'Anguille, ne présente pas de telles variations de poids. Elle cherche si l'Épinoche morte ne se comporterait pas comme l'Épinoche vivante. Elle constate que le mécanisme qui maintient constante l'imbibition de l'organisme reste intact quand la mort est provoquée par certaines substances (eau de mer concentrée, éther, chloroforme, acétone). Au contraire, il est détruit quand elle est due à l'intoxication par la saponine ou la strychnine. M^{lle} GUEYLARD voulut confirmer par des mesures directes ce que lui révélait l'étude des variations pondérales, à savoir la constance de la teneur en eau du poisson ou même son augmentation avec la salinité extérieure. Des dosages d'eau effectués sur l'organisme entier de poissons ayant vécu dans des liquides de diverses concentrations lui montrèrent que la teneur en eau varie peu et que le sens de cette variation était toujours celui qui indique une rétention d'eau dans les tissus, plus puissante quand la concentration extérieure est plus élevée. La mesure du point de congélation des tissus, faite sur des extraits à la presse de l'organisme entier, conduit aux mêmes conclusions.

Cette constance remarquable de l'imbibition de l'Épinoche étant bien démontrée, il restait à l'expliquer. C'est ce que tenta M^{lle} GUEYLARD à la lumière des travaux de MAYER et SCHAEFFER sur l'importance du coefficient lipocytiq^{ue} $\left(\frac{\text{Cholestérine}}{\text{Acides gras}} \right)$ dans les phénomènes d'imbibition. Voici l'hypothèse qu'elle propose et qu'elle cherche à vérifier dans le cas où l'Épinoche passe de l'eau douce dans l'eau salée : La perte d'eau initiale résulte des phénomènes osmotiques habituels, comme on les observe sur les espèces non adaptées. La réaction brusque de l'organisme s'opposant au départ d'une nouvelle quantité d'eau et se traduisant par une reprise de poids proviendrait d'une augmentation du rapport lipocytiq^{ue} des tissus. Comme l'imbibition de ceux-ci croît, d'après MAYER et SCHAEFFER, avec la grandeur de ce rapport, on peut en effet supposer que, pour parer au départ de l'eau des tissus, l'organisme augmente leur coefficient lipocytiq^{ue}. Cette augmentation serait due à un accroissement de leur teneur en cholestérine et cette substance proviendrait de matières cholestérinogènes contenues dans la rate du poisson. Sous l'influence de la salinité extérieure ces matières seraient rapidement transformées en cholestérine que la circulation sanguine répartirait ensuite entre les différents tissus. Telle est, dans ses grandes lignes, l'explication proposée

(1) La différence entre le poids initial et le poids final dépend de la concentration du milieu dans lequel l'animal a été transporté et de sa composition chimique (solution de Na Cl ou eau de mer). Souvent le poids final est identique au poids primitif.

par M^{lle} GUEYLARD. Pour la vérifier, elle détermine le coefficient lipocytiq^{ue} (mesuré sur l'organisme entier) des Épinoches vivant dans l'eau douce et de celles que l'on a transportées dans l'eau salée. Il est très sensiblement plus élevé pour ces dernières (de 50 % environ), comme le veut la théorie. D'autre part, si la rate fabrique de la cholestérine qui est ensuite transportée dans les tissus, elle doit diminuer de poids. Effectivement, M^{lle} GUEYLARD constate que cet organe, très développé chez l'Épinoche, perd une portion notable de son poids à la suite du transport de l'animal dans l'eau salée. Les autres organes, comme le foie, n'éprouvent pas une semblable perte de poids. Il en est de même de la rate des poissons non adaptés.

Les hypothèses de l'auteur paraissent donc confirmées par l'expérience. Remarquons cependant que l'explication proposée ne rend pas compte du fait que la mort du poisson peut ne pas modifier l'adaptation de son organisme aux changements de salinité. Nous avons vu en effet que, quand la mort est produite par certaines substances, elle laisse intact le mécanisme d'adaptation puisque le corps de l'Épinoche présente les mêmes variations de poids que lorsque l'animal est doué de vie. Comment expliquer alors le transport de la cholestérine de la rate dans les différents tissus, puisque la circulation sanguine est arrêtée ? Quelles que soient les objections que l'on puisse faire à cette théorie, les faits découverts par M^{lle} GUEYLARD n'en subsistent pas moins et ils sont fort intéressants. Ils nous montrent que certains poissons possèdent des mécanismes spéciaux pour lutter contre les phénomènes osmotiques provenant de la modification de la salinité du milieu extérieur.

Avec l'exposé de ce dernier travail, nous avons terminé l'historique des recherches entreprises dans le but de déterminer l'influence de la nature du milieu extérieur sur la composition et la concentration du milieu intérieur des animaux aquatiques. Nous allons maintenant exposer les considérations générales qui nous ont guidé dans nos recherches personnelles et le plan que nous avons suivi.

III. — Considérations générales sur nos recherches relatives à la concentration moléculaire

Comme nous l'avons déjà dit dans l'Introduction, nous avons voulu faire un travail de physiologie comparée et, dans cette première partie, nous étudions la concentration moléculaire du milieu intérieur de quelques représentants aquatiques de la série animale, choisis parmi les Vertébrés et les Invertébrés. Le but principal de nos recherches a été de déterminer le plus exactement possible comment la concentration du sang des êtres aquatiques est influencée par les variations de celle du liquide qui les entoure. Nous avons essayé d'éclaircir le mécanisme qui permet à certaines espèces de s'adapter aux changements de salinité et, dans ce but, nous avons expérimenté comparativement sur des animaux sténohalins qui ne tolèrent que des modifications peu notables de la salinité extérieure, et sur des animaux, voisins des précédents en organisation, mais qui, par contre, peuvent passer impunément d'un milieu dans un autre de salinité différente. Voici le plan que nous avons généralement adopté dans l'étude des divers animaux :

Nous commençons d'abord par déterminer la concentration moléculaire du sang de l'animal vivant à l'état de nature et celle de l'eau de mer ou de l'eau douce qui l'entoure. Nous prenons comme mesure de cette concentration le point cryoscopique du liquide envisagé.

On sait depuis longtemps qu'une partie notable de la concentration du milieu intérieur de tous les animaux est produite par du chlorure de sodium. Nous avons cherché à préciser cette notion, et, dans ce but, nous avons déterminé le rapport :

$$\frac{\text{Concentration moléculaire due au Na Cl}}{\text{Concentration moléculaire totale}}$$

Après avoir mesuré la température de congélation du sang, nous déterminons sa teneur en chlorure de sodium. D'autre part, nous avons cryoscopé des solutions de ce sel dans l'eau distillée, de titres bien déterminés, compris entre 5 et 40 ‰. Nous avons vu que leur point de congélation était très sensiblement proportionnel à la teneur en Na Cl, une solution à 10 ‰ se congelant dans notre cryoscope à $-0^{\circ}62$. Il résulte de cette proportionnalité qu'une solution à X ‰ se congèlera à $-\frac{0^{\circ}62 \times X}{10}$. Pour des teneurs comprises entre 5 et 40 ‰, le résultat de ce calcul concorde à moins de $0^{\circ}02$ avec la mesure expérimentale. Supposons maintenant que le point cryoscopique d'un liquide soit Δ et qu'il contienne X_g de Na Cl par litre. Nous calculons à quelle température se congèle une solution de Na Cl à X ‰, soit Δ' . Nous formons le rapport $\frac{\Delta'}{\Delta}$. Il est égal au rapport cherché :

$$\frac{\text{Concentration moléculaire due au Na Cl}}{\text{Concentration moléculaire totale}} = \frac{\Delta'}{\Delta}$$

puisque nous mesurons les concentrations moléculaires par le point de congélation. Il faut cependant supposer, pour que cette égalité soit vraie, que la dissociation du chlorure de sodium est la même dans le milieu intérieur que dans une solution de ce sel dans l'eau distillée, c'est-à-dire qu'elle n'est pas influencée par les autres substances, organiques ou minérales, qui peuvent accompagner le chlorure de sodium. Cette égalité de dissociation n'est probablement jamais réalisée exactement. Aussi ne faut-il pas attribuer à ce rapport une signification trop absolue. La suite de cet ouvrage montrera cependant qu'il présente un réel intérêt. Il nous permettra, par exemple, de savoir si, lorsqu'on transporte un animal d'un milieu dans un autre de salinité différente, les échanges osmotiques qui se produisent entre l'animal et le liquide extérieur se limitent à un simple mouvement d'eau qui modifie la concentration moléculaire du milieu intérieur sans en altérer la composition chimique relative, ou si, au contraire, cette composition chimique relative est modifiée par passage de substances dissoutes à travers les surfaces d'échanges. Dans le premier cas, le rapport doit conserver la même valeur avant et après le transfert de l'animal. Dans le second cas, cette valeur est modifiée.

Au point de vue de la physiologie comparée, ce rapport est également digne d'intérêt car nous verrons qu'il paraît ne dépendre que du degré d'organisation de l'animal sur lequel on le mesure et non de la nature du milieu extérieur. C'est ainsi qu'il a sensiblement la même valeur (0,75) pour tous les Téléostéens tant marins que d'eau douce. Il en est de même pour les Crustacés (0,92). Nous ferons une application de cette propriété à propos des Sélaciens. D'une manière générale la valeur de ce rapport augmente à mesure que l'on descend dans l'échelle animale, depuis les Mammifères jusqu'aux Invertébrés inférieurs marins comme les Échinodermes, pour lesquels elle égale l'unité. Or, pour l'eau de mer, on trouve justement que la valeur de ce rapport est un (1). On voit donc que, moins l'animal est élevé en organisation, plus son milieu intérieur se rapproche de l'eau de mer, au moins en ce qui concerne le rôle du

(1) Ce résultat paraît paradoxal puisqu'il semble indiquer que toute la concentration moléculaire de l'eau de mer est due uniquement au chlorure de sodium, alors qu'à côté de ce sel, cette eau tient en solution d'autres substances minérales comme des sulfates et des carbonates qui contribuent certainement à l'établissement d'une portion sensible de la concentration totale de l'eau de mer. L'explication de ce fait est la suivante :

Tout le chlore de l'eau de mer n'est pas combiné au sodium mais une certaine partie se trouve à l'état de chlorure de magnésium, sel moins dissocié que le Na Cl. Cependant, à la suite de l'analyse, on calcule

chlorure de sodium. Nous n'insistons pas davantage sur ces faits que nous n'indiquons d'une façon anticipée que pour montrer l'intérêt du rapport que nous avons été amené à envisager.

Nous avons vu dans l'historique que L. FRÉDÉRICQ, pour expliquer certaines propriétés du sang des Crustacés, avait été conduit à penser que la concentration des corps dissous devait se calculer en les supposant répartis non dans le volume total du liquide, comme on le fait toujours en chimie analytique, mais seulement dans le volume de l'eau de la solution. Ces deux manières de calculer la concentration conduisent à des résultats d'autant plus différents que le liquide est plus riche en substances dissoutes, par exemple quand il contient une proportion notable d'albumine, ce qui est le cas du sang de tous les Vertébrés et d'un grand nombre d'Invertébrés. La concentration est naturellement plus élevée quand on suppose, avec L. FRÉDÉRICQ, que les substances dissoutes ne sont réparties que dans l'eau de la solution et non dans le volume total du liquide. Il est évident que la façon de calculer la concentration du chlorure de sodium intervient dans la valeur que l'on trouve pour le rapport

$$\frac{\text{Concentration moléculaire due au Na Cl}}{\text{Concentration moléculaire totale.}}$$

Elle sera plus grande en adoptant les idées de L. FRÉDÉRICQ puisque le numérateur est plus élevé dans ce cas.

D'une manière générale nous n'avons pas suivi les idées de L. FRÉDÉRICQ car nous pensons que la question qu'il a soulevée et qu'il est le seul, à notre connaissance, à avoir étudiée, n'est pas suffisamment éclaircie. Aussi avons nous préféré calculer la concentration du Na Cl comme on le fait toujours en chimie. Dans quelques cas cependant (Crustacés marins et d'eau douce) nous avons cherché comment la valeur du rapport envisagé était modifiée quand on supposait les substances dissoutes réparties uniquement dans le volume de l'eau.

Après avoir ainsi étudié le milieu intérieur de l'animal vivant à l'état de nature, nous pouvons chercher quelles modifications subit ce milieu intérieur quand on fait varier la salinité du liquide qui l'environne habituellement.

Dans ce but on place des individus de l'espèce étudiée dans une série d'aquariums contenant soit des mélanges d'eau de mer et d'eau douce, ou de l'eau de mer additionnée de sel marin s'il s'agit d'animaux marins, soit au contraire des solutions de sel dans l'eau douce, si l'on utilise des animaux d'eau douce. Après une durée de séjour reconnue suffisante pour que les animaux soient en équilibre d'échange avec leur milieu extérieur, on prélève leur sang et on détermine sa température de congélation ainsi que celle du liquide qui entourait l'animal. Pour voir plus clairement l'influence de la salinité du milieu extérieur sur la concentration moléculaire du sang, on trace la courbe qui représente le point cryoscopique de ce sang en fonction de celui du liquide externe.

Nos recherches ont d'abord porté sur les Téléostéens d'eau douce et d'eau de mer non adaptés aux changements de salinité. Ensuite nous étudions l'Anguille qui se différencie des

tout le chlore en chlorure de sodium. Or le Na Cl étant plus dissociée que le Mg Cl², il en résulte qu'une molécule de Na Cl abaisse davantage le point de congélation de l'eau qu'une demi molécule de Mg Cl² qui contient autant de chlore. Ainsi donc, en comptant tout le chlore en chlorure de sodium d'une solution mixte de Na Cl et Mg Cl², on en déduit une concentration moléculaire plus grande que celle qui correspond à la réalité, et cela à cause de la plus faible dissociation du chlorure de magnésium. C'est ce qui se produit pour l'eau de mer et, par une simple coïncidence, l'excès de concentration ainsi calculé est égal à la concentration produite par les autres sels (sulfates, carbonates). Telle est la raison qui fait que le rapport envisagé est égal à l'unité pour l'eau de mer.

autres Téléostéens par la facilité avec laquelle elle supporte les modifications de concentration de son milieu extérieur. Un chapitre est consacré aux Sélaciens, poissons remarquables par la grande teneur de leur sang en urée. Enfin nous abordons l'étude des Invertébrés marins (Crustacés, Échinodermes, Vers). Parmi ceux-ci, le *Carcinus mænas*, Crustacé adapté aux changements de salinité est l'objet d'une recherche spéciale. Nous terminons ce travail sur la concentration moléculaire par l'examen de quelques Invertébrés d'eau douce, dont *Telphusa fluviatilis*, qui supporte parfaitement bien les variations de la salinité extérieure.

Tel est, dans ses grandes lignes, le plan que nous avons suivi dans notre travail.

Avant de terminer ce chapitre nous voudrions attirer l'attention sur une question de langage. Beaucoup d'auteurs emploient indifféremment, pour exprimer les résultats de leurs mesures cryoscopiques, les expressions *concentration moléculaire* et *pression osmotique* qui sont pour eux synonymes. Bien que ces deux expressions désignent des propriétés très différentes des solutions, l'usage s'est établi, parmi beaucoup de physiologistes de les employer l'une pour l'autre. C'est ainsi, par exemple que BOTTAZZI intitule un travail dans lequel il détermine le point de congélation du sang « *Pression osmotique* du sang des animaux marins », tandis que L. FRÉDÉRICQ, exposant des recherches analogues écrit « Sur la *concentration moléculaire* du sang et des tissus des animaux aquatiques ». L'emploi de ces deux expressions l'une pour l'autre provient du fait que la concentration moléculaire et la pression osmotique telle qu'on la définit généralement, sont toutes les deux proportionnelles à l'abaissement du point de congélation. Il s'en suit que le point cryoscopique mesure à la fois la concentration moléculaire et la pression osmotique. On peut donc employer l'une ou l'autre de ces expressions pour traduire le résultat d'une opération cryoscopique, mais à la condition d'adopter la définition classique de la pression osmotique (1).

Au cours de cet exposé, nous emploierons, comme les physiologistes qui nous ont précédé, les deux expressions. Cependant, quand nous étudierons les phénomènes osmotiques qui se produisent entre deux solutions séparées par des membranes *non* semi-perméables, nous ne pourrons plus utiliser les deux expressions l'une pour l'autre. Nous donnerons à ce moment les explications nécessaires.

(1) C'est-à-dire : La pression qu'il faut exercer sur une solution pour qu'aucun mouvement d'eau ne se produise à travers une membrane *semi-perméable* qui la séparerait de l'eau distillée.

CHAPITRE II

Exposé des méthodes et des appareils utilisés au cours des recherches

I. — Généralités

Avant de décrire toutes les expériences que nous avons faites sur les différents animaux aquatiques, et pour éviter des répétitions possibles, nous allons exposer maintenant les méthodes et les appareils dont nous nous sommes servi au cours de ces recherches.

Comme nous l'avons déjà dit, nous avons examiné dans cette première partie, le milieu intérieur des animaux aquatiques au point de vue de sa teneur en chlorure de sodium et de sa pression osmotique. Cette pression a été déterminée soit par le cryoscope, soit par la méthode du volume globulaire de HAMBURGER.

Nous allons donc décrire la méthode de dosage du chlorure de sodium que nous avons employée et exposer la technique des mesures cryoscopiques effectuées avec l'appareil spécial dont nous disposons. Nous rappellerons ensuite la méthode du volume globulaire et, dans un dernier paragraphe, nous donnerons quelques indications pratiques sur la façon de prélever le sang des animaux que nous avons utilisés.

II. — Dosage du chlorure de sodium

Plusieurs méthodes ont été employées par les physiologistes pour doser le chlorure de sodium dans les liquides biologiques. Elles ont toutes pour base la précipitation du chlore par le nitrate d'argent.

QUINTON et quelques autres expérimentateurs ont appliqué directement la méthode de MOHR au sang, sans destruction préalable des matières organiques.

D'autres auteurs, au contraire, éliminent ces matières organiques par calcination simple ou en présence de carbonate et d'azotate de sodium. Après neutralisation par l'acide azotique, on dose le chlore par la méthode de MOHR.

Enfin LAUDAT a proposé de détruire les matières organiques par voie humide, à l'aide du permanganate de potassium en milieu azotique et de doser le chlore par la méthode de CHARPENTIER et VOLHARD. C'est cette méthode que nous avons employée. En voici le principe :

On précipite le chlore par un excès de nitrate d'argent en présence d'acide azotique à l'ébullition puis on détruit les matières organiques par oxydation au moyen du permanganate. Enfin on titre l'excès de nitrate d'argent au sulfocyanure, avec l'alun de fer comme indicateur. On en déduit le volume de la liqueur argentique qui a été utilisé pour la précipitation du chlore et, enfin, la teneur en chlorure de sodium du liquide par litre.

Cette méthode présente le grand avantage de permettre l'élimination totale des matières organiques, dont la présence est une source d'erreur dans le dosage, sans exposer à aucune perte de chlorure alcalin. Lorsque, au contraire, on se débarrasse des matières organiques par voie sèche (calcination simple ou en présence de carbonate et d'azotate de sodium) on risque toujours de perdre une petite partie des chlorures que l'on veut ensuite doser, soit par volatilisation, soit à la suite de projections de substances, projections très fréquentes quand on calcine en présence d'un azotate.

Enfin, dans la méthode que nous utilisons, le liquide dans lequel on dose l'excès de nitrate d'argent est complètement incolore et transparent. Par suite le virage qui indique que tout l'excès du nitrate d'argent a été précipité se fait dans les meilleures conditions de netteté. Cette méthode volumétrique est certainement la plus précise que nous possédions pour doser le chlore dans les liquides des organismes vivants. Elle a encore l'avantage d'être très rapide.

Les résultats fournis par cette méthode sont plus précis que ceux que l'on trouve en appliquant directement la méthode de MOHR sans destruction préalable des substances organiques. On additionne le liquide à titrer de quelques gouttes de chromate de potassium et on verse une solution de nitrate d'argent jusqu'à ce que l'on obtienne le virage qui indique que tout le chlore a été précipité. Plusieurs causes d'erreurs peuvent fausser les résultats. D'abord c'est un fait bien connu que les substances organiques sont nuisibles à la précision du dosage. Ensuite la précipitation du chlore se fait en milieu non acide (1) et, dans ces conditions, d'autres substances peuvent précipiter le nitrate d'argent et la quantité de chlore déduite de l'analyse sera entachée d'une erreur par excès. Enfin le sang ou le sérum d'un grand nombre d'animaux est plus ou moins coloré. Par exemple celui des Crustacés et, d'une façon plus marquée, celui des Céphalopodes, est fortement coloré en bleu. Cette coloration masque le virage et enlève quelque certitude sur le moment précis où il se produit. L'erreur résultant de cette incertitude est une erreur par excès car on a dû ajouter un supplément de nitrate d'argent afin de pouvoir constater le changement de coloration du liquide.

Nous voyons donc que la méthode de MOHR appliquée directement au sang est peu précise. C'est pourtant celle que QUINTON a utilisée. On doit donc soupçonner les résultats qu'il a publiés d'être entachés souvent d'une erreur par excès. Toutes les causes d'erreurs précédemment indiquées sont évitées avec la méthode de LAUDAT que nous avons utilisée. Indiquons maintenant la mise en œuvre de cette méthode.

Nous avons utilisé une solution normale vingtième d'azotate d'argent. Bien que l'on puisse peser la quantité de ce sel, simplement desséché, correspondant au volume de liqueur que l'on veut préparer, il est préférable d'étalonner cette liqueur avec une solution soigneusement titrée de chlorure de sodium. On s'est aussi servi d'une solution de chlorure de potassium.

On prépare ensuite une liqueur de sulfocyanure d'ammonium que l'on amène à correspondre, centimètre cube à centimètre cube, avec la solution d'azotate d'argent. Enfin on fait une solution saturée de permanganate de potassium et une autre d'alun ferrique ammoniacal. On vérifie qu'elles sont toutes les deux bien exemptes de chlore, ainsi que l'acide azotique que l'on va utiliser.

Voici maintenant la manière d'opérer un dosage : Soit, par exemple, à déterminer la teneur en chlorure du sang d'un Crustacé.

(1) Nous verrons dans la deuxième partie que la réaction ionique du milieu intérieur des animaux est comprise entre $P. H = 7,0$ et $P. H = 8,0$.

Dans un vase de Bohême, on introduit 15 cm³ de la liqueur d'argent puis 1 cm³ de sang soigneusement mesuré. Il importe d'avoir vérifié la contenance des pipettes, principalement de celle avec laquelle on prélève le sang. Celle que nous avons utilisée avait un volume réel de 1,02 cm³. On verse alors dans le vase, après l'avoir agité, 3 à 5 cm³ d'acide azotique et on porte à l'ébullition. On ajoute alors goutte à goutte la solution de permanganate. Au début, celle-ci se décolore dès qu'elle arrive en contact avec le liquide, mais ensuite la décoloration est beaucoup plus lente. Il se produit un précipité brun qui ne disparaît que lentement. Lorsqu'il ne disparaît que très lentement, on cesse d'ajouter du permanganate, tout en maintenant l'ébullition jusqu'à ce que le précipité de chlorure d'argent soit parfaitement blanc et le liquide qui surnage bien transparent. Si l'on n'a pas versé assez de permanganate, le liquide est plus ou moins coloré en jaune. On introduit à nouveau quelques gouttes de permanganate de façon à ce que le liquide contenu dans le vase soit incolore. A ce moment, presque toutes les matières organiques du sang sont détruites. Il n'est pas indispensable qu'elles le soient rigoureusement. Il peut en subsister une petite quantité sans que la précision du dosage en soit affectée car, en milieu acide, ces matières sont beaucoup moins gênantes qu'en milieu neutre.

Il peut arriver que l'on introduise trop de permanganate. En ce cas, le liquide surnageant le précipité reste coloré en rouge. Il faut faire disparaître cette teinte qui masquerait le virage de l'alun ferrique lorsque l'on dosera l'excès de nitrate d'argent avec la liqueur de sulfocyanure. On peut utiliser dans ce but une goutte de solution d'acide oxalique.

Une fois le liquide incolore et le précipité bien blanc, on refroidit le vase sous un courant d'eau, on ajoute environ 2 cm³ d'alun ferrique et on amène le volume total à 50 cm³ environ par addition d'eau distillée. On porte alors sous la burette contenant la liqueur de sulfocyanure. On laisse couler celui-ci jusqu'à teinte rougeâtre persistante. Supposons que, pour atteindre ce résultat, il ait fallu verser 3,8 cm³ de sulfocyanure. Le volume de la liqueur d'argent qui a été précipité par le chlorure de sodium du sang est $15 - 3,8 = 11,2$. Comme la solution est normale vingtième, un cm³ correspond à $\frac{5,85}{2 \times 1.000}$ g. de Na Cl. Par conséquent

le 1,02 cm³ de sang que l'on a prélevé contenait $\frac{5,85 \times 11,2}{2 \times 1.000}$ g. Na Cl. Par suite, la teneur en chlorure de sodium du sang par litre est de : $\frac{11,2 \times 5,85}{2 \times 1,02} = 32,1$ g. Plus généralement, si N est le volume total de liqueur argentique introduit dans le vase, N' le volume de sulfocyanure versé et V le volume exact de liquide prélevé pour l'analyse, la teneur de ce liquide en chlore, exprimée en chlorure de sodium est, en grammes par litre :

$(N - N') \frac{5,85}{2V}$. Il faut naturellement choisir le volume N de liqueur argentique tel qu'il

en reste un excès après que tout le chlore contenu dans le volume V a été précipité. Plus le liquide à analyser est pauvre en chlore, plus grand sera le volume V que l'on en prélèvera.

La quantité de permanganate nécessaire pour détruire les matières organiques est très variable d'un liquide à l'autre. Avec l'eau de mer il n'y a pas besoin d'en ajouter. De même le sang de Siponcle (1) et d'Etoile de mer n'en nécessite que deux ou trois gouttes. Pour le sang de Crustacés, Céphalopodes et Poissons, il en faut au moins 1 cm³ par cm³ de sang. Cette quantité peut être largement dépassée. Elle varie beaucoup d'un animal à un autre.

Nous avons voulu comparer la méthode de LAUDAT, telle que nous venons de la décrire, à celle de MOHR appliquée directement sur le liquide sans destruction des matières organiques.

(1) Débarrassé de ses éléments figurés.

C'est ainsi que s'en servait QUINTON (1). Pour faire cette comparaison nous avons dosé le chlore par les deux méthodes, dans un certain nombre de liquides, en utilisant la même solution de nitrate d'argent, la même pipette pour prélever les liquides et la même burette pour verser les liqueurs titrées. Par suite les résultats seront comparables. Les différences que l'on pourra observer dans les teneurs en chlorure d'un même liquide ne seront pas dues à des erreurs de technique. Elles montreront que les deux méthodes ne conduisent pas à des teneurs identiques en chlore. Nous avons d'abord appliqué ces deux méthodes à un liquide ne contenant pratiquement pas de matières organiques, l'eau de mer, puis ensuite à des liquides biologiques.

Voici les résultats :

Eau de mer.

A) Méthode de LAUDAT.

On prélève 1,02 cm³ d'eau de mer, on ajoute 15 cm³ de liqueur d'argent et 4 cm³ d'acide azotique. On fait bouillir, on refroidit, on dilue à 50 cm³ et on ajoute 2 cm³ d'alun ferrique. On fait couler le sulfocyanure. Il en faut 3 cm³ pour obtenir le virage. La quantité de liqueur d'argent utilisée est donc de 15 - 3 = 12 cm³ et la teneur en chlorure de sodium de l'eau de

$$\text{mer de } \frac{12 \times 5,85}{2 \times 1,02} = 34,4 \text{ g. Na Cl } \text{‰}.$$

B) Méthode de MOHR.

Dans 50 cm³ d'eau distillée on introduit 1,02 cm³ d'eau de mer et 3 gouttes de chromate de potassium. On fait couler la liqueur d'argent. Il en faut 11,95 cm³ pour obtenir le virage, c'est-à-dire un volume pratiquement identique à celui utilisé dans la méthode précédente. La teneur en chlorure de sodium est :

$$\frac{11,95 \times 5,85}{2 \times 1,02} = 34,27 \text{ g. Na Cl } \text{‰}.$$

Les deux méthodes conduisent donc, pour ce liquide exempt de matières organiques, à la même teneur en chlore, à 1/200 près.

D'autres dosages confirment cette conclusion.

Sang de *Platycarcinus pagurus*.

A) Méthode de LAUDAT.

On prélève 1,02 cm³ de sang, légèrement coloré en bleu. On le verse dans un vase de Bohême avec 15 cm³ de liqueur d'argent et 4 cm³ d'acide azotique. On porte à l'ébullition et on ajoute goutte à goutte 1,2 cm³ de permanganate. On maintient l'ébullition jusqu'à ce que le liquide soit incolore et le précipité bien blanc. On refroidit, on dilue et on verse 2 cm³ d'alun ferrique. On titre l'excès d'argent au sulfocyanure. Il en faut 5,1 cm³ pour obtenir le virage.

La quantité de liqueur argentique utilisée pour précipiter le chlore est donc de 15 - 5,1 = 9,9 cm³.

Une deuxième opération analogue confirme ce résultat. La teneur du sang en chlorure de sodium est donc

$$\frac{9,9 \times 5,85}{2 \times 1,02} = 28,4 \text{ g. Na Cl } \text{‰}.$$

B) Méthode de MOHR.

On prélève 1,02 cm³ de sang que l'on introduit dans 50 cm³ d'eau distillée avec 5 gouttes

(1) L'eau de mer, milieu organique, p. 159.

de chromate de potassium. On fait couler la liqueur d'argent. Il en faut 10,3 cm³ pour obtenir le virage.

Une deuxième détermination donne 10,4 cm³.

Nous constatons que, cette fois, une plus grande quantité de liqueur d'argent a été utilisée. Avec la méthode de LAUDAT, 9,9 cm³ avaient suffi. Nous allons donc trouver plus de chlore par la méthode de MOHR que par celle de LAUDAT.

$$\frac{10,3 \times 5,85}{2 \times 1,02} = 29,5 \text{ g. Na Cl } \text{‰}.$$

Cette teneur est supérieure de 3,8 % par rapport à celle que l'on a trouvée avec la méthode de LAUDAT.

Sang d'Écrevisse.

La méthode de Laudat indique une quantité de chlorure de sodium de 11,4 g. par litre. En utilisant celle de MOHR on trouve 11,7, soit une différence par excès de 3 %.

Sang d'Escargot.

Ce sang est fortement coloré en bleu.

A) Méthode de LAUDAT.

Ce sang n'étant pas aussi riche en chlore que les précédents, on en prélève 5 cm³ que l'on introduit avec 10 cm³ de nitrate d'argent dans un vase de Bohême. On ajoute 5 cm³ d'acide azotique. On détruit les matières avec 5 cm³ de permanganate.

La quantité de sulfocyanure nécessaire pour obtenir le virage est de 1,2 cm³. Par suite, 8,8 cm³ de nitrate d'argent ont été utilisés pour précipiter le chlore, dont la teneur, exprimée en chlorure de sodium est, par litre de sang :

$$\frac{8,8 \times 5,85}{2 \times 5} = 5,15 \text{ g.}$$

Une autre détermination confirme ce résultat.

B) Méthode de MOHR.

Après addition du chromate de potassium, le mélange de sang et d'eau distillée devient vert. On ajoute goutte à goutte la liqueur d'argent. Le virage est difficile à apercevoir.

Pour 5 cm³ de sang il faut 9,7 cm³ de solution titrée.

Une deuxième détermination donne 9,6 cm³. La forte coloration du liquide empêche de constater avec netteté le début du virage. La teneur en Na Cl de ce sang est donc :

$$\frac{9,6 \times 5,85}{2 \times 5} = 5,62 \text{ g.}$$

Ainsi, on trouve une teneur en chlore bien plus forte en utilisant la méthode de MOHR. La différence entre les deux méthodes est de 9,1 %.

Nous avons dosé à plusieurs reprises le chlore du sang de l'Escargot tant par la méthode de LAUDAT que par celle de MOHR et toujours cette dernière nous a indiqué des doses de chlorure de sodium supérieures d'environ 9 à 11 % à celles trouvées par l'autre méthode. Nous pensons que c'est la forte coloration du sang qui est la principale cause de cette erreur par excès.

Il ressort de cette étude comparative des deux méthodes de dosage du chlorure de sodium que celles-ci conduisent toutes les deux à des résultats identiques quand on les applique à des liquides ne contenant pratiquement pas de matières organiques. Au contraire, quand ces matières sont présentes dans le liquide analysé, la méthode de MOHR conduit à des teneurs en chlore qui peuvent être entachées d'une erreur par excès de plusieurs « pour cent ». Cette

erreur peut s'élever jusqu'à dix pour cent quand le liquide possède une coloration propre qui empêche de constater nettement le virage du chromate de potassium.

La méthode de LAUDAT conduit à des résultats précis car on détruit les matières organiques et la précipitation du chlore se produit en milieu acide.

III. — Cryoscopie

Les appareils habituellement utilisés pour les déterminations cryoscopiques nécessitent une quantité de liquide d'au moins 10 cm³. Souvent le physiologiste ne peut se procurer sur un seul animal un tel volume du liquide biologique qu'il veut étudier. Il est alors obligé de réunir des liquides provenant de plusieurs individus. Si cette obligation ne se présente que rarement dans l'étude des gros animaux (lapin, chien, cheval, etc...), par contre elle est inévitable lorsque l'on travaille sur de petits animaux. C'est ce qui nous est arrivé au cours des recherches qui font l'objet de cet ouvrage. Cette nécessité d'utiliser plusieurs animaux pour une détermination cryoscopique présente plusieurs inconvénients : D'abord une perte de temps, puisqu'il faut répéter sur plusieurs individus le prélèvement du liquide dont on veut mesurer la température de congélation. Ensuite elle exige que l'on dispose d'un plus ou moins grand nombre de ces animaux, ce qui n'est pas toujours possible s'ils sont rares ou d'un prix élevé. Enfin, les résultats de la cryoscopie n'ont que la valeur d'une moyenne puisqu'ils sont obtenus sur le mélange de liquides provenant de plusieurs animaux. On ne peut connaître les écarts individuels.

Cette critique montre qu'il y a un très grand avantage à pouvoir déterminer la température de congélation d'un liquide sur le plus petit volume possible.

Les cryoscopes ordinaires exigent 10 cm³ de liquide. Il faut donc essayer de réduire leurs dimensions, en particulier celles du thermomètre car c'est la grandeur de son réservoir qui impose le volume de liquide nécessaire pour une détermination. Il est évident que plus ce réservoir sera petit, moins il faudra de liquide.

Le problème revient donc à construire un thermomètre à petit réservoir mais cependant très sensible puisqu'il doit indiquer les températures avec une précision minima de 0°02. Remarquons qu'en général la sensibilité s'acquiert en augmentant justement le volume du réservoir et si celui des thermomètres cryoscopiques est si grand, c'est pour leur donner la sensibilité requise pour les mesures auxquelles ils sont destinés. Si l'on veut diminuer la capacité de ce réservoir sans diminuer la précision de l'instrument, il faut, en même temps réduire le diamètre intérieur de la tige. Mais on se trouve en présence d'une nouvelle difficulté. Plus ce diamètre est faible, plus il est difficile qu'il reste constant sur toute la longueur de la graduation.

Ce problème de la construction d'un thermomètre cryoscopique à petit réservoir ayant été posé au constructeur BAUDIN, il le résolut, sans diminuer la précision de l'instrument, en étudiant chaque portion de la tige. Les différents degrés n'occupent plus tous la même longueur et les divisions ne sont pas toutes également espacées comme dans un thermomètre ordinaire. Les dimensions du réservoir sont telles qu'il suffit de 2,5 à 3 cm³ de liquide pour déterminer une température de congélation, soit moins du tiers du volume nécessaire quand on utilise les thermomètres cryoscopiques ordinaires. Ce thermomètre est gradué en cinquième de degré, mais l'intervalle entre chaque division est tel que l'on peut facilement

apprécier le centième et même le deux centièmes de degré. C'est cet instrument (1) que nous avons utilisé pour toutes nos mesures de température de congélation même lorsque nous disposions d'un volume de liquide bien supérieur à celui nécessité par ce thermomètre.

Le dessin ci-contre nous dispense de décrire plus longuement notre cryoscope.

Voici maintenant le mode opératoire que nous avons utilisé. Il diffère du mode habituel en ce sens que l'on n'a pas besoin d'apporter de l'extérieur un cristal de glace.

Le liquide dont on veut mesurer la température de congélation est introduit dans le tube central de l'appareil, en quantité telle que le réservoir du thermomètre soit complètement recouvert quand l'agitateur est en dehors du liquide. On agite régulièrement dès que la température est arrivée au voisinage de zéro. Il y a presque toujours surfusion. A un certain moment la colonne mercurielle remonte brusquement jusqu'à une température qui est au plus égale au point cryoscopique. On retire alors le tube central de l'enveloppe de verre qui le séparait de l'action directe du mélange réfrigérant et on le réchauffe très doucement par contact avec la main gauche, tout en continuant de manœuvrer l'agitateur avec la main droite. Quand la glace a *presque* totalement disparu, on reporte le tube dans l'enveloppe de verre. La température redescend lentement puis, à un moment donné, reste stationnaire ou remonte un peu. On cesse alors d'agiter. La colonne mercurielle remonte parfois encore de quelques centièmes de degré puis reste fixe. Elle indique le point cryoscopique cherché. Il doit se maintenir constant pendant plusieurs minutes.

Si l'on a trop réchauffé après la cessation de la surfusion, il ne reste plus trace de glace dans le liquide et la surfusion se produit à nouveau quand on le reporte dans le mélange réfrigérant. Il faut alors, lorsqu'elle a cessé, recommencer la suite des opérations précédemment indiquées.

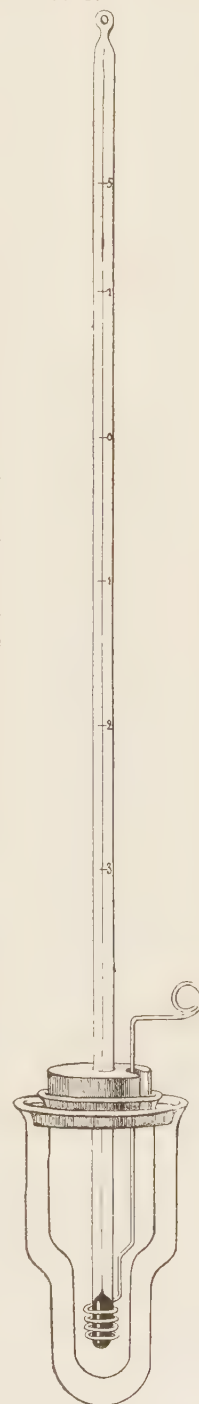
En déterminant plusieurs fois de suite le Δ d'un même liquide, on trouve des températures qui ne diffèrent pas entre elles de plus de 0°02. En général nous faisons trois déterminations et nous en prenons la valeur moyenne. La température ainsi obtenue doit être corrigée du fait que le zéro de la graduation du thermomètre ne coïncide pas avec le point d'arrêt de la colonne mercurielle quand l'appareil est plongé dans la glace fondante. Nous avons déterminé souvent cette correction. Elle a d'ailleurs très peu varié, de — 0°04 en 1921 à — 0°06 en 1925.

(1) Ce thermomètre est la propriété du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Océanographique de Paris.

Le constructeur BAUDIN est décédé en 1921 et, depuis sa mort, nous n'avons trouvé personne pour construire un thermomètre analogue, aussi précis, malgré la faible capacité de son réservoir.

La maison allemande GOERTZ vend des thermomètres cryoscopiques utilisables avec la même quantité de liquide, mais ils sont moins exacts et surtout d'une lecture moins facile, les divisions étant très serrées, afin de ne pas trop réduire le diamètre intérieur de la tige.

Nous rendons hommage à la mémoire de BAUDIN, véritable artiste, qui, par la construction de cet instrument a largement facilité nos recherches.

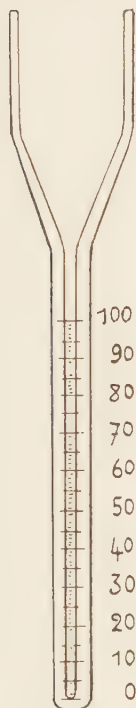


Cryoscope utilisable avec de petites quantités de liquide.
(Demi grandeur naturelle).

La précision de nos mesures cryoscopiques atteint au moins le cinquantième de degré et un grand nombre d'entre elles sont certainement exactes au centième de degré près. Cette précision est bien suffisante pour un travail de physiologie.

IV. — Volume globulaire

Cette technique a pour but de mesurer les variations de volume que subissent les globules rouges du sang quand on les transporte dans des solutions diversement concentrées.



Tube hématoците
(Grandeur naturelle)

En voici le principe :

Dans une série de tubes hématoцитes, tous identiques à celui qui est représenté ci-contre et qui contiennent chacun une des solutions dont on veut étudier l'action sur les globules, on introduit la même quantité de sang puis, au bout d'un certain temps, on centrifuge tous ces tubes à grande vitesse. Les globules sanguins se tassent dans la partie graduée de chaque tube. Au bout d'un certain temps de centrifugation, ce tassement est définitif. Si l'on continue à faire tourner la centrifugeuse, la hauteur de la colonne globulaire n'est pas modifiée. C'est cette hauteur que l'on prend comme mesure du volume des globules.

Donnons maintenant quelques détails pratiques sur cette technique.

Les tubes dont nous nous sommes servi ont une longueur totale de 9,3 cm. Le volume de la partie large est peu supérieur à 2 cm³, celui de la tige graduée est de 0,04 cm³ et ce volume est divisé en 100 parties égales, le zéro étant situé à la partie inférieure du tube. Il est indispensable que le volume total de la portion graduée et les volumes partiels compris entre chaque division de la graduation soient rigoureusement les mêmes pour tous les tubes. Il faut s'en assurer une fois pour toutes avant de commencer à se servir des tubes. Voici comment nous avons vérifié le calibrage de notre série de tubes : Dans l'un d'eux on introduit avec une pipette capillaire un peu de mercure, dont le volume doit être inférieur à celui de la portion graduée. On centrifuge un instant pour faire passer ce mercure dans la partie graduée sans interposition de bulles d'air. On note la hauteur de la colonne mercurielle, 55 divisions par exemple. Avec la même pipette, on retire la totalité du mercure, sans en laisser ni en perdre une trace et on la porte dans un second tube. Si le calibrage de ces deux tubes est identique, ce mercure doit encore occuper 55 divisions. On fait ainsi passer la même quantité de mercure successivement dans tous les tubes, en notant chaque fois la division à laquelle la colonne affleure. Avec un peu d'habitude ce transvasement du mercure ne présente aucune difficulté. Les hauteurs atteintes par la colonne mercurielle dans chacun des tubes ne doivent pas différer de plus d'une division pour que ces tubes soient utilisables. On élimine ceux dont le calibrage ne satisfait pas à cette condition. Il faut maintenant vérifier que les différentes divisions d'un même tube limitent entre elles des volumes égaux. Pour cela on introduit dans le tube un petit index de mercure dont la longueur occupe quelques divisions, une dizaine par exemple. On le promène dans toute la partie graduée et, quelle que soit sa position, au milieu ou aux extrémités, il doit toujours s'étendre sur le même nombre de divisions. Il ne faut pas se servir de tubes qui ne remplissent pas cette condition. Ils sont d'ailleurs assez rares. Le plus souvent, ce sont alors les divisions supérieures, voisines de 100, qui se différencient du reste de la graduation. Si ce défaut n'affecte qu'un petit

nombre de divisions, on peut cependant se servir du tube. Il suffira d'éviter de mettre une quantité de sang telle que la colonne globulaire atteigne, après centrifugation, la région inexacte.

Nous avons utilisé dans nos recherches une série de huit tubes dont le calibrage a été reconnu exact. L'erreur qui peut porter sur nos différentes mesures de volume globulaire n'atteint pas une division.

Voici maintenant la façon de se servir de ces tubes :

On commence d'abord par rincer intérieurement le tube avec le liquide dont on veut étudier l'action sur les globules. Pour ce faire, on en verse un à deux cm^3 dans la partie large du tube, puis, par aspiration avec une pipette capillaire dont l'extrémité effilée repose presque contre le fond du tube, on fait circuler le liquide contre les parois intérieures de la partie graduée du tube. On vide ainsi celui-ci complètement. Il est commode de s'aider d'une trombe à eau pour cette opération. On introduit alors 2 cm^3 du liquide dans la partie supérieure du tube, puis on ajoute le sang. Celui-ci doit être défibriné et, autant que possible filtré pour éliminer les petits caillots de fibrine. On le mesure avec une pipette spéciale permettant d'en prélever 0,04 ou 0,08 cm^3 . La quantité à ajouter dépend de sa richesse en globules. Cette quantité doit être telle que la colonne globulaire atteigne au moins la division 50 après la centrifugation (1).

Quand le sang utilisé est pauvre en globules, il est bon, pour éviter d'avoir à en ajouter un trop grand volume, de le centrifuger pour éliminer une partie du sérum. Le sang étant introduit dans le tube, on le mélange bien avec le liquide à l'aide d'un petit agitateur de verre. Suivant les cas, on laisse s'écouler un temps plus ou moins long avant de porter les tubes dans la centrifugeuse. Cette attente a pour but de permettre aux globules de se mettre en équilibre d'échanges osmotiques avec le liquide qui les baigne. Lorsque l'on juge qu'elle a été assez prolongée, on place les tubes dans la centrifugeuse. On maintient chacun d'eux dans un des godets de la machine, à l'aide d'un mandrin en bois de forme appropriée et dont le poids est tel que la somme de ce poids et de celui du tube hématocrite soit rigoureusement la même pour deux godets diamétralement opposés. La centrifugeuse dont nous disposions possédait quatre godets. Cela nous permettait de faire tourner quatre tubes en même temps. Après un certain temps de marche on arrête la machine et on note la hauteur de la colonne globulaire dans chaque tube. On remet ensuite la centrifugeuse en marche et lorsqu'elle a tourné quelque temps on l'arrête de nouveau pour constater si la hauteur de la colonne globulaire a diminué. Si elle est identique dans chaque tube à ce qu'elle était à la première lecture, c'est que le tassement des globules est achevé et les volumes mesurés sont définitifs. Si non, on continue à centrifuger jusqu'à ce que deux lectures successives donnent des résultats identiques. Avec notre centrifugeuse le tassement des globules était toujours atteint en vingt minutes. La vitesse de rotation était voisine de 5.000 tours à la minute.

Comme l'on utilise le sang comme source de globules rouges, il en résulte que l'on introduit en même temps des globules blancs. Après la centrifugation, ceux-ci surmontent la colonne des globules rouges mais la démarcation entre les deux sortes de globules est toujours nette. On peut déterminer la hauteur de la colonne des globules rouges à une fraction de division près. Les leucocytes n'occupent que deux ou trois divisions au maximum.

(1) L'erreur absolue étant toujours sensiblement la même (à peine une division), l'erreur relative est d'autant plus faible que la hauteur de la colonne globulaire est plus grande.

Après chaque détermination il faut nettoyer soigneusement les tubes hématocrytes. Cette opération se fait facilement avec la pipette capillaire reliée à la trombe. Ayant remplacé le liquide situé dans la partie large des tubes par de l'eau on introduit la pipette dans la portion graduée. Les globules sont aspirés et balayés par le courant d'eau. On termine par un rinçage à l'eau distillée. De temps en temps on lave les tubes à l'acide acétique pour éliminer les matières grasses qui peuvent adhérer aux parois.

V. — Prélèvement du sang des animaux

Nous allons indiquer, pour terminer cet exposé des méthodes expérimentales, la façon dont nous avons prélevé le milieu intérieur des différents animaux utilisés. Si ce prélèvement est des plus simples chez beaucoup d'animaux, il nécessite chez d'autres l'usage d'un appareil de contention.

Echinodermes. — La prise de l'hydrolymphe se pratique très simplement chez l'Etoile de mer en sectionnant un des bras de l'animal bien essuyé. Il suffit d'incliner ce dernier pour que l'hydrolymphe s'écoule en grande abondance.

Vers. — Le liquide coelomique s'extrait en incisant, avec des ciseaux, la paroi du corps, de préférence au voisinage de la tête. La seule précaution à prendre est de ne pas perforer l'intestin. Ce liquide est très abondant chez le Siponcle. Il constitue plus du tiers du poids de l'animal.

C'est également le liquide coelomique que nous avons prélevé chez l'Arénicole, bien que ce Ver possède du sang proprement dit, mais le volume de ce sang est si faible que l'on ne peut, même en sacrifiant plusieurs individus, en recueillir une quantité permettant les déterminations cryoscopiques et chimiques.

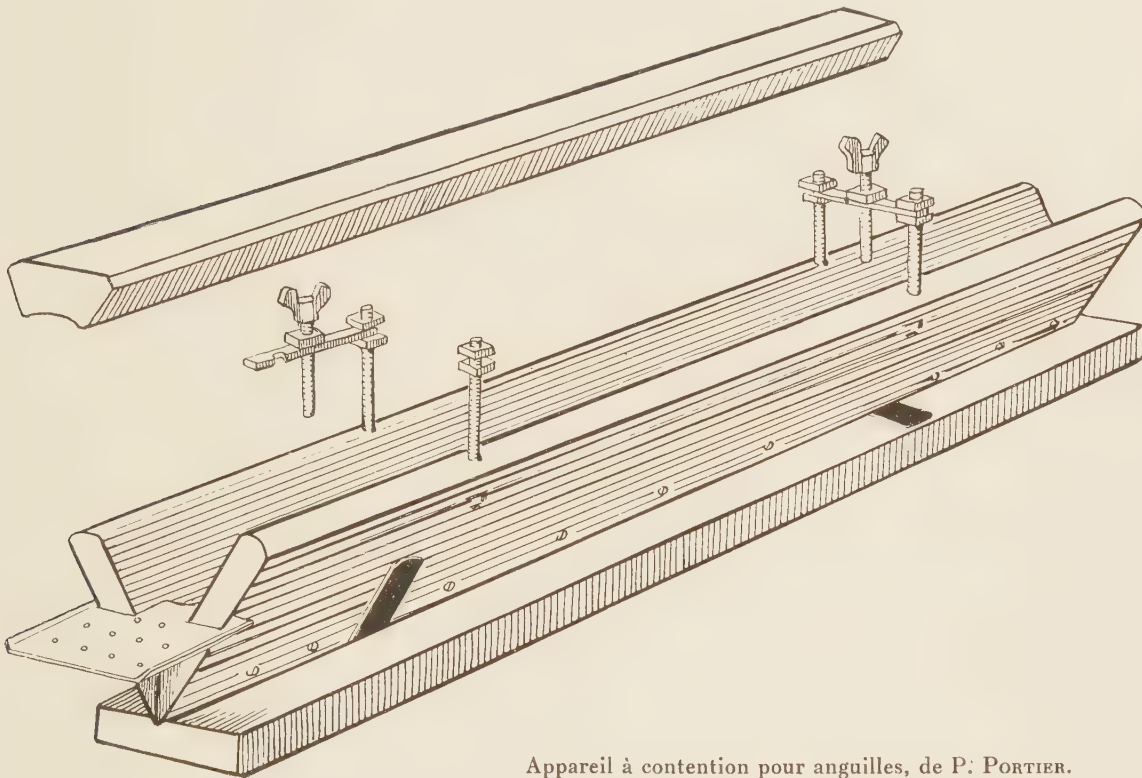
Crustacés. — L'hémolymphe se retire en coupant une patte de l'animal. Elle s'écoule goutte à goutte. Lorsque nous utilisons des Crustacés de petite taille comme les *Carcinus maenas* ou les *Portunus puber*, c'est une des pinces que nous coupons. Chez les individus plus gros, comme *Maia squinado*, *Platycarcinus pagurus*, *Homarus*, nous sectionnons une des petites pattes. Dans tous les cas la section était pratiquée au voisinage de l'extrémité du membre le plus éloigné du corps. Ce membre était bien essuyé et il suffisait de le placer au-dessus d'un vase pour recueillir l'hémolymphe.

Il arrive souvent que le membre coupé s'autotomise et le sang cesse alors de couler. On n'a d'autre ressource que de couper une autre patte. Il nous est arrivé plusieurs fois d'être obligé de couper successivement toutes les pattes d'une *Maia* pour obtenir la quantité de sang désirée. Cette autotomie, fréquente chez les Crustacés marins est au contraire rare chez les formes d'eau douce. Dans les conditions où nous opérons, elle ne s'est jamais produite chez les Ecrevisses et les Telphuses.

Le sang d'un certain nombre de Crustacés, principalement du Homard et de la Langouste, se coagule très vite après avoir été extrait de l'animal et le caillot est si consistant que l'on ne peut en prélever une partie avec une pipette ni manœuvrer l'agitateur du cryoscope. Le sang ainsi coagulé est inutilisable. Pour éviter cette coagulation, nous recueillons directement le sang dans le vase cryoscopique plongé dans le mélange réfrigérant. Le sang se solidifie presque immédiatement et ne coagule pas. Quand on en a retiré la quantité suffisante on réchauffe le tube avec la main, on met en place l'agitateur, le bouchon et le thermomètre. Quand il n'y a plus qu'une trace de glace, on reporte le tube dans le mélange réfrigérant et on détermine le point de congélation du sang comme nous l'avons indiqué au paragraphe sur

la cryoscopie. Cette opération terminée on prélève *immédiatement* avec une pipette la quantité de sang nécessaire au dosage du chlorure de sodium.

Le prélèvement du sang de Bernard Lhermite est un peu plus compliqué. On choisit les plus gros individus que l'on puisse se procurer. On retire l'animal de la coquille qui l'abrite en brisant celle-ci avec des pinces et en évitant de léser le corps du Bernard. On coupe ensuite à son extrémité sa plus grosse pince. Par compression du membre on fait sortir l'hémolymphe. Si sa seconde pince n'est pas trop petite, on répète sur elle l'opération précédente. On parvient ainsi à extraire deux à trois cm³ de liquide d'un seul animal.



Appareil à contention pour anguilles, de P. PORTIER.

Céphalopodes. — La Seiche, soigneusement essuyée, est mise sur le dos. On ouvre le manteau et on ferme avec une pince à pression continue l'orifice par où le noir est projeté: La cavité palléale est époncée complètement avec du papier filtre. On sectionne alors une des veines branchiales. Le sang s'écoule en abondance et s'amasse dans un repli du manteau où il ne reste plus qu'à le recueillir avec une pipette. En sectionnant ensuite l'autre veine branchiale, on obtient encore un peu de sang. Un animal de dimension moyenne peut donner 10 cm³ de sang. Ce sang ne coagule pas spontanément même après une journée.

Sélaciens. — On immobilise les Raies en les fixant sur une planche à l'aide de cinq clous, le dos de l'animal étant en contact avec les bois. On essue bien le ventre de l'animal et on découvre le cœur que l'on incise après avoir épongé le liquide péricardique. Le sang s'écoule dans la cavité cartilagineuse qui entoure le cœur. On l'y recueille avec une pipette et on le défibrine immédiatement.

Les Roussettes sont saignées de la même façon, mais nous nous sommes servi pour les immobiliser d'un appareil à contention spécial imaginé par P. PORTIER pour les Anguilles. Cet appareil consiste en une gouttière en V formée par deux planches de bois. Elle est prolongée à une de ses extrémités par une plaque de zinc rectangulaire perforée de trous. Une autre planche de bois permet de recouvrir cette gouttière sur les bords de laquelle elle est maintenue à l'aide de deux systèmes de vis. La figure ci-dessus indique clairement la disposition de cet appareil et nous dispense de le décrire plus longuement.

Voici maintenant la façon de l'utiliser :

La planche supérieure étant retirée, on introduit l'animal dans la gouttière de manière que sa tête et la région cardiaque reposent sur la plaque de zinc. On immobilise le reste du corps en mettant en place la planche recouvrant la gouttière, que l'on maintient fortement appuyée grâce aux vis. De cette façon le cœur reste accessible à l'opérateur. On maintient la tête immobile, soit par la main d'un aide, soit plus simplement à l'aide de plusieurs fils passant à travers les trous pratiqués dans la lame de zinc. L'animal ne peut plus faire aucun mouvement. Aussi cet appareil de contention rend-il très facile les prélèvements de sang que l'on doit effectuer sur les poissons de forme allongée.

Téléostéens. — L'Anguille, le Congre et la Murène sont tous trois saignés d'une manière identique. La voici : Le poisson étant introduit dans l'appareil précédent, on dissèque la région du cœur avec les ciseaux et la sonde cannelée et on met à nu l'artère branchiale. On l'obture près du cœur avec une pince à pression continue. On introduit alors dans l'artère une canule métallique. En retirant la pince à pression continue le sang s'écoule par jets et il ne reste plus qu'à le défibriner. Pour que le sang ne se coagule pas dans le conduit de la canule, il faut que celle-ci ait été au préalable paraffinée par trempage dans une solution chloroformique de paraffine, puis évaporation. Au bout de quelque temps, le sang cesse de couler. On peut cependant en obtenir une nouvelle quantité. Après avoir remis en place le bouchon de la canule et obturé l'artère branchiale avec la pince à pression continue, on retire l'Anguille de la gouttière et on la laisse s'agiter plus ou moins longtemps, un quart d'heure par exemple. On recueille alors une notable quantité de sang en débouchant la canule après avoir retiré la pince. Lorsque le poisson à saigner est d'une trop petite taille pour que l'on puisse introduire une canule dans son artère branchiale, on coupe celle-ci le plus loin possible du cœur et on recueille directement le sang à sa sortie, en amenant cette artère au-dessus du vase destiné à recevoir ce liquide.

Le prélèvement du sang chez les autres Téléostéens ne nécessite pas l'emploi d'un appareil de contention. Voici comment nous avons opéré pour la Carpe et les poissons de forme analogue (Rascasse, Tanche) : La Carpe, bien essuyée, est tenue dans la main gauche à l'aide d'un torchon, le ventre de l'animal étant tourné vers l'expérimentateur. On écaille la portion de peau située entre les deux nageoires pectorales puis on donne un coup de ciseaux profond à cet endroit de manière à inciser le cœur. On retourne aussitôt le poisson en le maintenant au-dessus du vase destiné à recueillir le sang. On introduit alors dans la plaie un tube de verre de diamètre ordinaire et long de plusieurs centimètres. Le sang s'écoule rapidement par l'orifice inférieur du tube. Quand l'écoulement est devenu très lent du fait de la coagulation du sang dans le tube et autour du cœur, on retire le tube et on passe dedans

un agitateur. On donne un nouveau coup de ciseaux dans le cœur et on replace le tube dans la plaie. On obtient encore ainsi un peu de sang (1).

Le sang des poissons se coagulant très vite, il faut le défibriner pendant qu'on le recueille.

(1) Nous croyons intéressant de mentionner ici une observation que nous avons faite à propos des Carpes. Après avoir été saignées selon la méthode que l'on vient de lire, les Carpes montraient par leurs réactions musculaires qu'elles restaient longtemps encore en vie. Nous avons eu l'idée de replacer dans l'eau courante une Carpe qui venait d'être saignée à blanc et dont, par suite, le ventricule avait été incisé à plusieurs reprises. Nous pensions qu'une lésion aussi grave du cœur devait entraîner rapidement la mort du poisson, comme cela se produit toujours chez les Mammifères. A notre grand étonnement nous vîmes le poisson reprendre bientôt sa station normale et ses mouvements habituels. Il ne présentait d'ailleurs aucun phénomène morbide les jours suivants, bien que la plaie cutanée n'ait même pas été refermée. Il était impossible de le distinguer des poissons normaux. Dans la suite nous avons souvent remis dans l'eau des Carpes venant d'être saignées et ce n'est que très exceptionnellement qu'elles ont succombé. En général elles étaient en parfait état plusieurs mois après la prise de sang. Nous avons constaté qu'il en était de même lorsque l'on pratiquait plusieurs saignées, à quelques jours d'intervalle sur le même poisson. La cicatrisation du cœur incisé est si rapide et si parfaite, au moins en apparence, qu'il est impossible, dès le lendemain, de découvrir les points de cicatrisation du ventricule. Ce fait tient sans doute à l'épaisseur de la paroi ventriculaire et à sa texture spongieuse. Il serait intéressant d'étendre cette observation à d'autres poissons.

CHAPITRE III

Étude du Téléostéen d'eau douce

I. — Généralités

De tous les poissons qui peuplent les eaux douces, les Téléostéens constituent la grande majorité. Ce n'est que très exceptionnellement que l'on y rencontre des poissons cartilagineux (1). Les Cyclostômes, les Ganoïdes et les Dipneustes qui habitent soit temporairement, soit d'une façon continue les rivières et les lacs sont représentés par un bien moins grand nombre d'espèces que les poissons osseux. Aussi commencerons-nous notre étude sur les poissons d'eau douce par celle des Téléostéens. Comme nous l'avons déjà dit, quelques-uns de ceux-ci peuvent vivre indifféremment dans l'eau douce et dans l'eau de mer. Dans le présent chapitre nous n'étudions que les Téléostéens d'eau douce non adaptés aux changements de salinité. Nous prendrons comme type de ceux-ci un Cyprinidé, la Carpe, que l'on peut se procurer très facilement et qui a l'avantage de vivre parfaitement en captivité, dans un aquarium. Sa taille est telle qu'un seul individu fournit une quantité de sang largement suffisante pour qu'on puisse effectuer avec précision les déterminations physico-chimiques et chimiques qui constituent la base de nos recherches.

II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du milieu intérieur du Téléostéen d'eau douce

A notre connaissance, c'est L. FRÉDÉRICQ qui mesura le premier la pression osmotique du sang de quelques poissons d'eau douce. Pour cette recherche, il utilisa la méthode cryoscopique qui avait été employée auparavant par BOTTAZZI au cours de déterminations analogues sur le milieu intérieur des animaux marins. FRÉDÉRICQ trouva ainsi que le point de congélation du sang de *Barbus fluviatilis* était de $-0^{\circ}50$, et celui de *Leuciscus dobula* de $-0^{\circ}45$. Plus récemment, GARREY, ayant examiné un certain nombre de poissons du Missouri et du Mississipi, conclut que le Δ du sang des Téléostéens d'eau douce était de $-0^{\circ}50$. Il confirma cette détermination cryoscopique par l'observation des globules rouges placés dans des solutions de chlorure de sodium de diverses concentrations. Les globules ne subissaient pas de modification de forme dans les solutions de Δ voisin de $-0^{\circ}50$. C'est donc bien la solution avec laquelle ils sont isotoniques.

La teneur en chlorure de sodium du sang de quelques poissons d'eau douce a été déterminée par QUINTON (2). Voici les doses qu'il indique pour le sérum, en grammes par litre :

Carpe, de 6,6 à 6,4.

Brochet, de 6,86 à 6,94.

Perche, 8,01.

(1) On sait qu'il existe des Requins dans le Gange. D'autres Sélaciens habitent dans le Tonlé Sap, grand lac de l'Indochine.

(2) L'eau de mer, milieu organique, p. 440.

Dans le tableau qui suit, nous indiquons les résultats que nous avons obtenus avec la Carpe. Nous avons déterminé la concentration moléculaire du sang de ce poisson à différentes époques de l'année afin de voir s'il ne subirait pas des variations de composition saisonnières. Tantôt nous avons cryoscopé le sang complet simplement défibriné, tantôt au contraire nous avons éliminé les globules par centrifugation.

Le chlorure de sodium a toujours été dosé dans le sérum.

Δ SANG	Δ SÉRUM	Na Cl EN GRAMMES PAR LITRE DE SÉRUM	DATES
— 0°50	»	»	29-11-23
— 0°49	»	»	27-12-21
— 0°50	»	»	20- 2-24
»	— 0°50	»	28-10-24
»	— 0°49	5,9	21- 5-24
»	— 0°51	6,1	13- 1-25
»	— 0°53	6,3	24-10-24
Moyenne	— 0°504	6,1	»

De ces chiffres, il ressort que le point de congélation du sang de la Carpe est de — 0°50 (moyenne des 6 déterminations) et la teneur en chlorure de sodium de 6,1 (moyenne des 3 déterminations). Le Δ trouvé s'accorde bien avec les températures de congélation indiquées par FRÉDÉRICQ et GARREY pour d'autres poissons d'eau douce.

Par contre, la teneur en NaCl est plus faible que celle mentionnée par Quinton pour le même poisson (6,5 ‰). Nous avons vu, en faisant la critique du procédé analytique de QUINTON que cette différence ne doit pas nous surprendre puisque sa méthode d'analyse entraîne des erreurs par excès quand elle est appliquée à des liquides biologiques.

En comparant les déterminations faites à différents mois de l'année, il n'apparaît aucune différence systématique entre les Δ, ce qui montre que la concentration du sang de la carpe est indépendante de la saison.

Les écarts individuels sont assez notables car ils atteignent 0°04. Ils sont en dehors des erreurs expérimentales. On peut d'ailleurs remarquer que les différences que l'on observe entre les teneurs en NaCl sont parallèles à celles qui se manifestent entre les Δ. Ces légères différences tiennent peut-être à l'état de nutrition du poisson ou à son sexe. Nous n'avons pas fait d'études à ce sujet.

Enfin, dernière remarque, on obtient très sensiblement le même point de congélation que l'on cryoscope le sang complet défibriné ou le sérum. C'est là un résultat bien connu.

Cherchons maintenant la part qui revient au chlorure de sodium dans l'établissement de la pression osmotique du sérum de la Carpe.

Nous avons trouvé que celui-ci contenait 6,1 g. de NaCl par litre. Or nous avons vu que le point de congélation d'une solution de Na Cl à 10 ‰ était — 0°62. Par suite une solution de Na Cl à 6,1 g. par litre se congèle à — $\frac{0°62 \times 6,1}{10} = -0°38$. Ce calcul est correct car

la variation de dissociation du chlorure de sodium quand sa dilution augmente de 10 ‰ à 6,1 ‰ est pratiquement nulle. Comme les pressions osmotiques sont proportionnelles aux points cryoscopiques, nous pouvons écrire :

$$\frac{\text{Pression osmotique due au NaCl}}{\text{Pression osmotique totale du sérum}} = \frac{-0^{\circ}38}{-0^{\circ}504} = 0,757.$$

Ainsi les 3/4 de la pression osmotique du milieu intérieur de la Carpe sont produits par le chlorure de sodium. L'autre quart est dû principalement aux matières organiques et aux autres composés minéraux du sérum.

Nous avons indiqué dans un chapitre précédent la signification et l'intérêt que nous attachons à ce rapport. Nous n'en reparlerons donc pas ici.

Remarquons que, si les écarts qui existent entre les points cryoscopiques du sang des différentes Carpes sont assez sensibles, il n'en est pas de même pour les différences de valeurs du rapport $\frac{\text{Pression osmotique due au NaCl}}{\text{Pression osmotique totale}}$ d'un individu à un autre. La constance du rapport apparaît immédiatement quand on remarque que les variations des teneurs en Na Cl sont parallèles à celles des Δ et dans le même sens. Calculons ce rapport pour les 3 Carpes dont nous avons mesuré à la fois le Δ et la teneur en chlorure de sodium :

CARPE DU : (DATES)	Δ SÉRUM	Na Cl SÉRUM	Δ Na Cl	RAPPORT
21- 5-24	— 0°49	5,9	— 0°366	74,7
13- 1-25	— 0°51	6,1	— 0°38	74,5
24-10-24	— 0°53	6,3	— 0°391	74,0

Le rapport de la dernière colonne varie seulement de 74,0 à 74,7, soit une différence de 0,7 sur 74, c'est-à-dire une variation d'à peine 1 %. Au contraire, l'écart entre les deux extrêmes (— 0°49 et — 0°53) est 0°04, soit une différence de 8 %. Ceci démontre bien la constance du rapport envisagé. En étudiant d'autres animaux, nous retrouverons la même fixité de ce rapport.

Maintenant que nous connaissons bien les caractéristiques normales du milieu intérieur de la Carpe et leurs variations possibles, nous pouvons entreprendre l'étude des modifications du milieu intérieur de ce poisson quand on modifie la concentration de son milieu extérieur.

III. — Variation de la concentration du milieu intérieur du Téléostéen d'eau douce quand on augmente la salinité du milieu extérieur qui l'environne

Généralités

Si les physiologistes ont cherché depuis assez longtemps comment variait la composition du sang des poissons marins et des Invertébrés aquatiques quand on modifiait la salinité du milieu dans lequel ces êtres vivent habituellement, il semble bien, par contre, que les poissons d'eau douce (1) n'aient jamais été l'objet d'une recherche semblable. C'est cette lacune que nous avons essayé de combler.

Les expériences faites dans ce but consisteront à placer une Carpe dans de l'eau douce dont la pression osmotique aura été augmentée par l'addition d'une certaine dose de sel

(1) Il s'agit uniquement ici des poissons non adaptés aux changements de salinité. L'Anguille et l'Epi-noche ont été étudiées par un certain nombre de naturalistes, comme nous l'avons déjà indiqué.

marin. Quand on jugera que le poisson est resté suffisamment longtemps dans la solution pour qu'un équilibre stable ait pu s'établir entre ses humeurs et le milieu extérieur, on le retirera de celui-ci, on déterminera le nouveau point cryoscopique de son sang. On fera une série d'expériences analogues mais avec des salinités différentes du liquide entourant le poisson.

La première question à résoudre est celle-ci :

Combien de temps faut-il laisser la Carpe dans la solution saline pour que son milieu intérieur soit en équilibre osmotique avec celle-ci ?

Dans son travail sur l'Epinoche, M^{lle} GUEYLARD a eu l'occasion de peser à différents intervalles des Cyprinidés d'eau douce placés dans de l'eau salée. Elle constata que le poids du poisson diminue d'abord rapidement puis reste très sensiblement constant à partir de 2 heures de séjour.

Cette fixité de poids indique que les échanges osmotiques entre le poisson et le milieu qui l'environne sont terminés, que, par suite, l'équilibre cherché est atteint au bout de 2 heures. Les expériences de M^{lle} GUEYLARD portaient sur le Goujon et le Gardon. Nous avons voulu, avant d'entreprendre notre travail, voir si ces résultats s'appliquaient à la Carpe.

Deux Carpes furent placées en même temps dans la même solution de sel marin de $\Delta = -0.054$. L'une fut retirée au bout de 3 h. 30, l'autre fut laissée 30 jours dans le milieu salé. Voici les résultats de la cryoscopie du sang de ces deux poissons :

Carpe ayant séjourné	Carpe ayant séjourné
3 h. 30 dans la solution	30 jours dans la solution
Δ sang = -0.059	Δ sang = -0.058

Ainsi l'équilibre osmotique était bien atteint au bout de 3 h. 30. Tel est donc le temps qu'il nous suffira de laisser nos poissons dans les solutions de sel marin. Cependant, chaque fois que ceux-ci n'ont pas paru incommodés par la salinité du milieu extérieur que nous leur imposions, nous les y avons maintenus un temps plus long.

Par contre, les Carpes introduites dans un liquide dont le point cryoscopique était inférieur à -0.075 présentaient rapidement des signes morbides et nous n'avons pas toujours pu, sous peine de les trouver mortes à la fin de l'expérience, les laisser le temps habituel dans l'eau salée. Nous les en avons retirées quand elles paraissaient très malades, mais elles étaient encore vivantes au moment où nous les avons saignées.

Au lieu de modifier brusquement la pression osmotique du milieu extérieur de l'animal, on peut, au contraire, ajouter progressivement le chlorure de sodium de manière à réaliser une augmentation lente de la salinité du liquide qui entoure le poisson. De la sorte, on peut amener celui-ci à vivre sans troubles apparents dans une solution dont la concentration est telle qu'une Carpe normale que l'on y plonge brusquement, succombe en peu de temps.

Nous avons donc réalisé deux séries d'expériences. Dans la première, les Carpes étaient placées dans une solution de chlorure de sodium dans l'eau douce ayant une pression osmotique déterminée; dans la seconde, les Carpes vivaient dans un grand aquarium rempli d'eau douce dans lequel on ajoutait à intervalles déterminés, une certaine quantité de sel marin.

A) Expériences dans lesquelles la pression osmotique du milieu extérieur de la Carpe varie brusquement

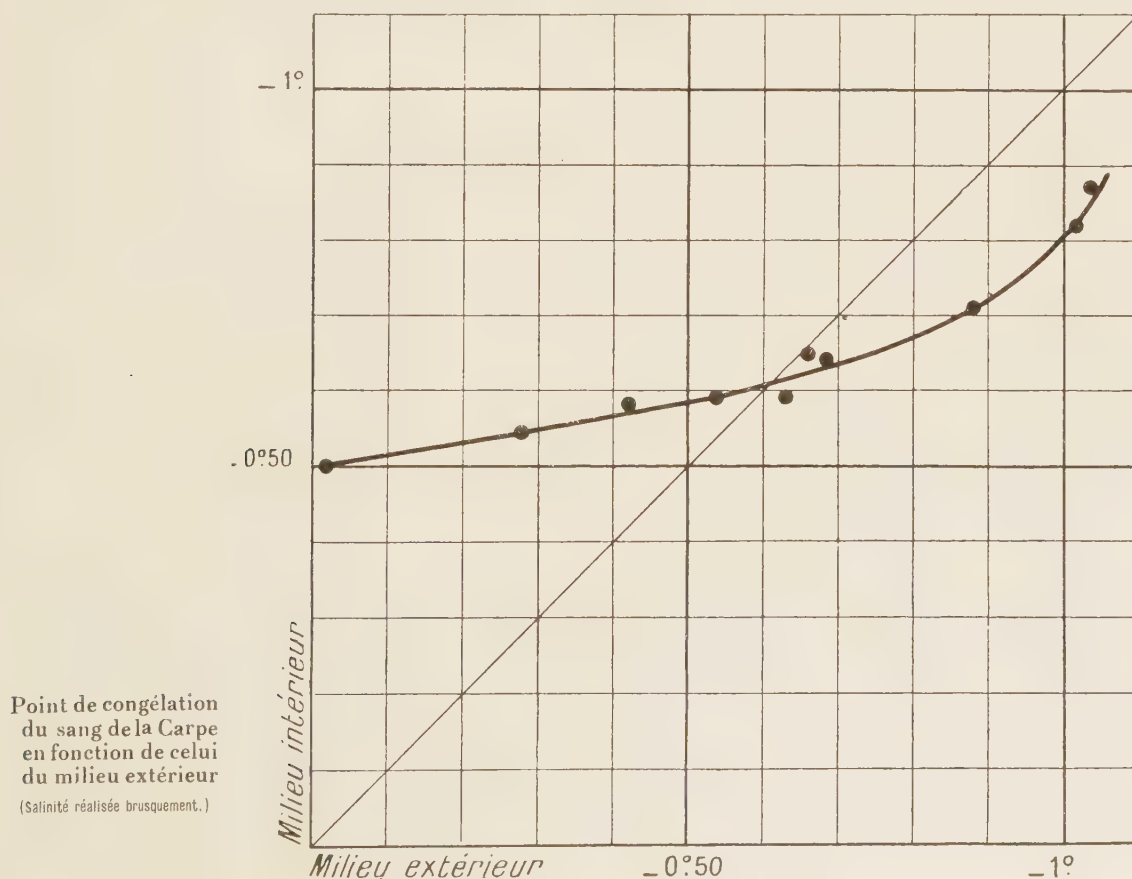
Ces expériences ont été réalisées pendant la saison froide, de novembre à février. Des Carpes, de poids variant de 400 à 800 g., sont placées dans un aquarium contenant environ 13 litres de la solution saline dont on veut étudier les effets. Elles y séjournent au moins 3 h. 30, sauf celles placées dans des solutions concentrées. Avant la mise en expérience, chaque animal est pesé. De même quand on le retire pour le saigner.

DURÉE DU SÉJOUR	Δ SOLUTION	Δ SANG DE LA CARPE	ÉTAT DE LA CARPE à la fin du séjour	PERTE DE POIDS RAMENÉE A 100 GR.
»	— 0°02 (eau douce)	— 0°50	Très bon	»
3 h. 30	— 0°28	— 0°54	id.	0,67
3 h. 30	— 0°42	— 0°58	id.	0,92
3 h. 30	— 0°51	— 0°59	id.	»
6 h. »	— 0°61	— 0°61	id.	1,6
6 h. »	— 0°63	— 0°59	id.	»
5 h. 30	— 0°66	— 0°65	id.	»
4 h. 30	— 0°68	— 0°64	id.	2,2
5 h. 25	— 0°88	— 0°71	Mauvais	4,3
5 h. 30	— 0°88	— 0°71	Mauvais	»
1 h. 15	— 1°02	— 0°82	Mauvais	3,5
3 h. »	— 1°04	— 0°87	Très mauvais	3,6

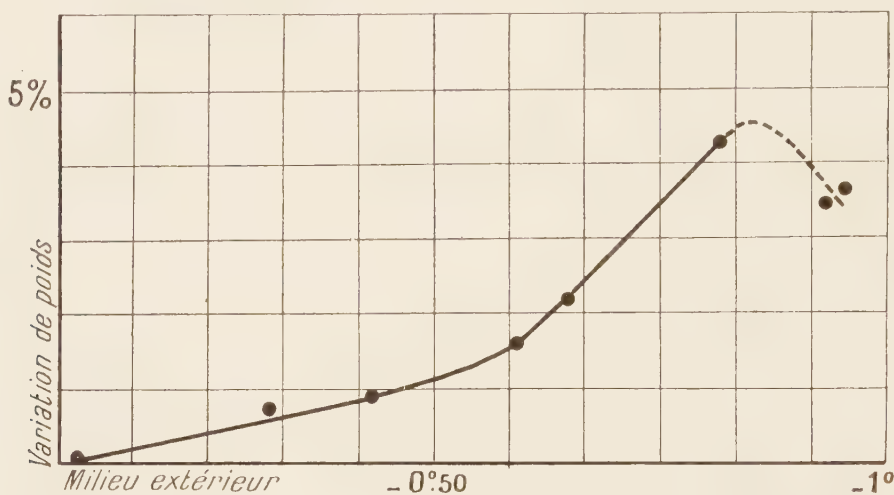
Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau ci-dessous et les deux graphiques qui suivent.

La dernière colonne du tableau indique les diminutions de poids des poissons ramenées à 100 g. afin d'obtenir des nombres comparables d'un animal à un autre.

C'est toujours le sang complet défibriné qui a été cryoscopé.



Il résulte de ces expériences que la concentration du milieu intérieur de la Carpe n'est pas fixe. Elle dépend de celle du liquide qui l'entoure. C'est une fonction croissante de cette dernière et cette fonction est très sensiblement linéaire, tant que le point cryoscopique du milieu extérieur de la Carpe ne dépasse pas $-0^{\circ}70$ environ.



Variation du poids de la carpe en fonction de la concentration du milieu extérieur.

Sa courbe représentative est en effet une droite. Cette droite est moins inclinée sur l'axe des abscisses que la bissectrice. Il s'en suit que la pression osmotique du sang de la Carpe augmente moins vite que celle du milieu extérieur. Aussi cette pression, très supérieure au début à celle de l'eau, lui devient inférieure pour les fortes concentrations.

Le poids du poisson diminue régulièrement à mesure que la teneur en sels du milieu ambiant augmente. La diminution de poids va d'abord en s'accroissant régulièrement avec l'accroissement de la salinité mais, à partir d'une pression osmotique extérieure correspondant à $\Delta = -0^{\circ}90$ environ, la perte de poids s'atténue, bien que la concentration moléculaire interne de la Carpe continue à augmenter. Ainsi le poisson ne perd que 3,5 % de son poids quand on le transporte dans une solution de $\Delta = -1^{\circ}02$, alors qu'il abandonne 4,3 % dans un liquide dont le Δ n'est que $-0^{\circ}88$. On peut expliquer ce fait de la manière suivante :

Jusqu'à une pression osmotique extérieure s'exprimant par un Δ de $-0^{\circ}90$ les échanges entre le poisson et son milieu se bornent à des échanges d'eau. Sous l'influence de la salinité environnante, les humeurs du poisson se déshydratent et se concentrent par perte d'une certaine quantité d'eau qui vient diluer le milieu extérieur. Cette perte d'eau est égale à la perte de poids du poisson. Elle est d'autant plus considérable que le milieu ambiant est plus concentré.

Mais quand cette concentration devient suffisamment élevée, un nouveau phénomène se produit. Le chlorure de sodium du milieu extérieur qui, jusqu'alors, ne pouvait diffuser dans le poisson, y parvient à la faveur de sa haute concentration si bien que l'augmentation de la pression osmotique du poisson est due à la fois à une perte d'eau et à une acquisition de chlorure de sodium.

Cette absorption de Na Cl est d'ailleurs un phénomène pathologique car les Carpes placées dans une solution de concentration telle qu'il se produise, succombent rapidement, comme nous l'avons déjà dit.

En essayant de faire vivre des Carpes dans des milieux de salinité progressivement croissante, nous verrons que — 0°90 marque justement une concentration qu'il est très difficile de dépasser. Il semble donc bien que cette concentration entraîne des modifications importantes dans la physiologie du poisson.

Pour résumer les notions acquises au cours de cette étude, on peut dire que la pression osmotique intérieure de la Carpe dépend de celle du milieu qui l'entoure. L'étude simultanée des variations de poids de l'animal et de la concentration de son sang semble montrer que la perméabilité des tissus de l'animal qui sont le siège de ses échanges avec le milieu extérieur dépend de la concentration de ce dernier (1). Trois cas sont alors à considérer :

1° Dans l'état normal, c'est-à-dire quand le poisson vit dans l'eau douce, cette membrane branchiale est imperméable à l'eau puisqu'elle maintient pendant toute la vie du poisson une différence de pression osmotique correspondant environ à — 0°50, soit plus de 6 atmosphères ;

2° Si l'on augmente la salinité du milieu extérieur sans toutefois abaisser son point de congélation au dessous de — 0°90 environ, la branchie devient, dans une certaine mesure, perméable à l'eau. Elle n'est pas cependant semi-perméable au sens physico-chimique du mot, car si cela était, la pression osmotique devrait devenir la même à l'intérieur du poisson et à l'extérieur ;

3° Si la salinité extérieure est telle que le liquide se congèle au-dessous de — 0°90, la branchie laisse passer non seulement l'eau, mais encore le chlorure de sodium. Très rapidement alors se manifestent des phénomènes pathologiques qui conduisent en peu de temps le poisson à la mort.

La perméabilité de la membrane branchiale nous apparaît donc essentiellement fonction de la salinité extérieure.

Influence de la réaction du milieu extérieur sur les échanges entre le Téléostéen d'eau douce et ce milieu

Dans les expériences précédentes, on a supposé implicitement que la réaction du liquide dans lequel on plongeait le poisson avait sa valeur habituelle. L'eau utilisée avait toujours une réaction ionique voisine de 7,7 et l'addition de sel marin ne modifie par cette réaction.

On peut se demander si la relation qui lie la pression osmotique du sang de la Carpe à celle du liquide qui l'entoure n'est pas altérée quand on fait varier cette réaction ionique.

Il y a longtemps déjà, HAMBURGER observa l'influence de la réaction sur les échanges cellulaires. Il constata que les globules rouges de Mammifères augmentaient de volume, et, par suite, s'imbibaient davantage quand on acidifiait par du gaz carbonique le sérum dans lequel ils étaient en suspension. Plus récemment, ce fait a été observé de nouveau par GIRARD. Un phénomène analogue, mais s'étendant à tout un organisme a été étudié par M^{lle} GUEYLARD, qui découvrit que lorsqu'on modifiait suffisamment la réaction de l'eau entourant un poisson pour entraîner sa mort rapide, il en résultait une augmentation de poids de l'animal, que le changement de réaction soit une alcalinisation ou une acidification.

M^{lle} GUEYLARD n'a pas réussi à mettre ce phénomène en évidence quand la réaction ionique, quoique modifiée, restait dans une limite compatible avec la vie du poisson. Pourtant, antérieurement LOPEZ LOMBA avait réussi à favoriser le passage des alcaloïdes dans l'organisme des poissons par l'alcalinisation du milieu extérieur contenant ces alcaloïdes et dans lequel se trouvait le poisson, tout en maintenant cette alcalinité dans les limites permettant

(1) Nous verrons dans la suite que c'est à travers l'épithélium de la Branchie que les échanges se produisent pour les Téléostéens d'eau douce.

une survie indéfinie des témoins. Nous basant sur tous ces travaux et particulièrement sur la théorie que GIRARD a donnée de ces phénomènes, nous avons été amenés à penser qu'une variation de réaction si légère fut-elle, devait entraîner une perturbation dans le rythme normal des échanges osmotiques. C'est ainsi qu'après avoir étudié ces échanges dans le cas de la faible alcalinité normale de l'eau douce, nous avons cherché à mettre directement en évidence, au moyen de mesures cryoscopiques, la modification qu'une variation de réaction peut amener dans la relation qui lie la pression osmotique du milieu intérieur des Téléostéens d'eau douce à celle du liquide qui les entoure.

Nous n'avons réalisé jusqu'à présent qu'un très petit nombre d'expériences, mais comme toutes s'accordent pour mettre en évidence le phénomène prévu, nous croyons devoir les signaler, espérant bien les compléter ultérieurement. Elles ont porté sur l'acidification du milieu extérieur et consistent à placer des Carpes dans de l'eau douce ou dans des solutions de chlorure de sodium acidifiées. Après un temps de séjour convenable, on les retire, on les saigne et on détermine le point de congélation du sang complet défibriné. On voit s'il coïncide ou non avec celui que l'on déduit du tableau et de la courbe du paragraphe précédent.

L'acide phosphorique a été choisi comme agent d'acidification. On verra dans la deuxième partie de cet ouvrage que cet acide est très peu toxique. Les conditions et les résultats des expériences sont consignés dans le tableau ci-dessous.

NUMÉRO	DURÉE du SÉJOUR	RÉACTION de la SOLUTION	Δ de la SOLUTION	Δ du sang DE LA CARPE	Δ DÉDUIT DE LA COURBE page	DIFFÉRENCE ENTRE CES Δ
I	8 h. 15	4,8	— 0°03	— 0°46	— 0°50	+ 0°04
II	8 h.	5,0	— 0°03	— 0°46	— 0°50	+ 0°04
III	5 h. 15	5,0	— 0°62	— 0°52	— 0°60	+ 0°08
IV	0 h. 45	4,1	— 0°85	— 0°68	— 0°71	+ 0°03

Ces quatre expériences montrent que le poisson retient plus d'eau dans ses humeurs qu'il ne le ferait en l'absence de l'acidité que l'on a communiquée au liquide qui le baigne. Les trois premières sont particulièrement suggestives car les différences entre le Δ mesuré dans le sang du poisson ayant vécu dans la solution acidifiée et le Δ du sang d'un poisson ayant séjourné dans la même solution non acide sont certainement en dehors des erreurs expérimentales et des fluctuations individuelles. La dernière expérience montre une différence plus faible mais cela s'explique quand on considère la forte concentration de la solution. Si l'acidité tend à augmenter la teneur en eau du poisson, la pression osmotique extérieure tend à la diminuer et d'autant plus énergiquement que cette pression est plus forte.

Le poisson de l'expérience II a été pesé avant sa mise en expérience et au sortir de la solution. Il a présenté une augmentation de poids de 1,3 % qui confirme bien le résultat fourni par le cryoscopie, à savoir l'augmentation de l'imbibition de l'animal.

Les poissons I, II, et III étaient très vivants quand on les a saignés. Ils avaient simplement blanchi par suite de la précipitation du mucus sur leurs téguments : on verra dans la deuxième partie qu'une acidité représentée par $\text{PH} = 5,0$ est parfaitement bien tolérée par les poissons quand elle est produite par l'acide phosphorique. De ces expériences, trop peu nombreuses, il résulte que, comme les théories de GIRARD le faisaient prévoir, les échanges entre un poisson et le milieu qui l'entoure sont influencés par la réaction de ce dernier, même quand cette réaction ne sort pas des limites compatibles avec la vie.

B) Expériences dans lesquelles la pression osmotique du milieu extérieur de la Carpe varie progressivement

C'est un fait bien connu que tous les animaux supportent une modification quelconque des conditions habituelles de leur existence d'autant mieux que cette modification se produit plus lentement. On peut citer de nombreux exemples de ce fait. Ainsi on peut habituer l'organisme humain à supporter des doses de plus en plus élevées de poisons, à vivre sous une pression de l'atmosphère ambiante différente de la pression habituelle etc., etc.; alors que ces nouvelles conditions imposées brusquement provoqueraient une mort rapide de cet organisme, elles sont au contraire bien tolérées quand on les réalise progressivement. Les poissons ne font pas exception à cette règle et, il y a déjà longtemps, PAUL BERT a cherché à faire vivre des animaux d'eau douce dans des liquides très riches en sels, cette augmentation de salinité étant réalisée progressivement. Voici les résultats auxquels il fut conduit : « le degré de salure plus ou moins rapidement mortel pour les animaux d'eau douce correspond au tiers (1) de celui de l'eau de mer. Au contraire, on peut aisément les amener à vivre dans l'eau progressivement salée jusqu'à un degré de salure un peu plus supérieur à la moitié (2) de celui de l'eau de mer. Au delà on éprouve les plus grandes difficultés pour obtenir l'acclimatation et il faut ralentir beaucoup la salure. Elle ne doit pas être de plus de 0,1 g. par litre et par jour. »

REGNARD fit des expériences analogues mais en employant le sulfate de magnésie ou le sulfate de soude au lieu de sel marin. En procédant avec une lenteur extrême (3) il arriva à faire vivre une Carpe dans une solution contenant 40 g. de sulfate de soude par litre et une autre dans une solution à 50 g. de sulfate de magnésie par litre.

Aucun de ces savants ne chercha quelles modifications avait pu subir le sang des poissons vivant dans des milieux aussi profondément différents du milieu habituel.

Nous nous sommes demandé si la relation qui lie la pression osmotique du milieu intérieur de la Carpe à celle du liquide qui l'entoure était la même, que la salinité soit réalisée brusquement ou, au contraire, progressivement et un certain nombre d'expériences ont été instituées pour résoudre cette question.

En voici le détail :

Dans un aquarium de verre contenant 50 litres d'eau douce, on place une Carpe conservée depuis quelque temps dans les bassins du sous-sol de l'Institut Océanographique. Tous les jours, ou même deux fois par jour, on jette dans l'aquarium une certaine dose de sel marin pulvérisé qui se dissout très rapidement. Dans les premières expériences, au lieu d'ajouter le sel sous forme solide, nous faisions couler goutte à goutte et très lentement une solution saturée de sel, mais nous avons bientôt renoncé à cette méthode car, si elle présentait l'avantage de réaliser une augmentation continue de la salinité de l'eau de l'aquarium, par contre, très rapidement, le sel formait une cristallisation à l'orifice de sortie de la solution saturée et obturait celui-ci, d'où arrêt et irrégularité de fonctionnement du dispositif.

Les animaux n'ont pas été nourris (4) pendant les expériences et l'eau des aquariums n'a pas été renouvelée. Malgré cela, beaucoup de poissons sont restés bien vivants pendant plus de 50 jours. Toutes ces adaptations lentes à la salinité ont été faites d'octobre à mars. En dehors de cette époque, avec le même dispositif expérimental, il nous a été impossible de maintenir les Carpes en vie plus de quelques jours après leur mise en expérience. Peut-être

(1) Cette dilution correspond à un point de congélation de — 0°65 à — 0°70 environ.

(2) Cette dilution correspond à un point de congélation de — 1° environ.

(3) Cinq mois dans le cas du sulfate de soude.

(4) Leur perte de poids était notable et dépassait parfois 15 % à la fin de l'expérience.

ce fait est-il l'indice d'une influence de la saison sur la résistance de la Carpe à l'eau salée. On sait que Mlle GUEYLARD a découvert une semblable influence chez l'Épinoche. Même pendant l'hiver, certaines Carpes mouraient subitement peu après la mise en route de l'expérience, sans que la faible salinité réalisée pendant ce laps de temps puisse être incriminée. YOUNG, qui fit récemment des expériences du même genre, fit une constatation analogue. Parfois ses poissons mouraient sans raison apparente bien qu'il prit la peine de filtrer de temps en temps l'eau de leur aquarium. Mais pendant l'hiver, ces morts prématurées sont exceptionnelles.

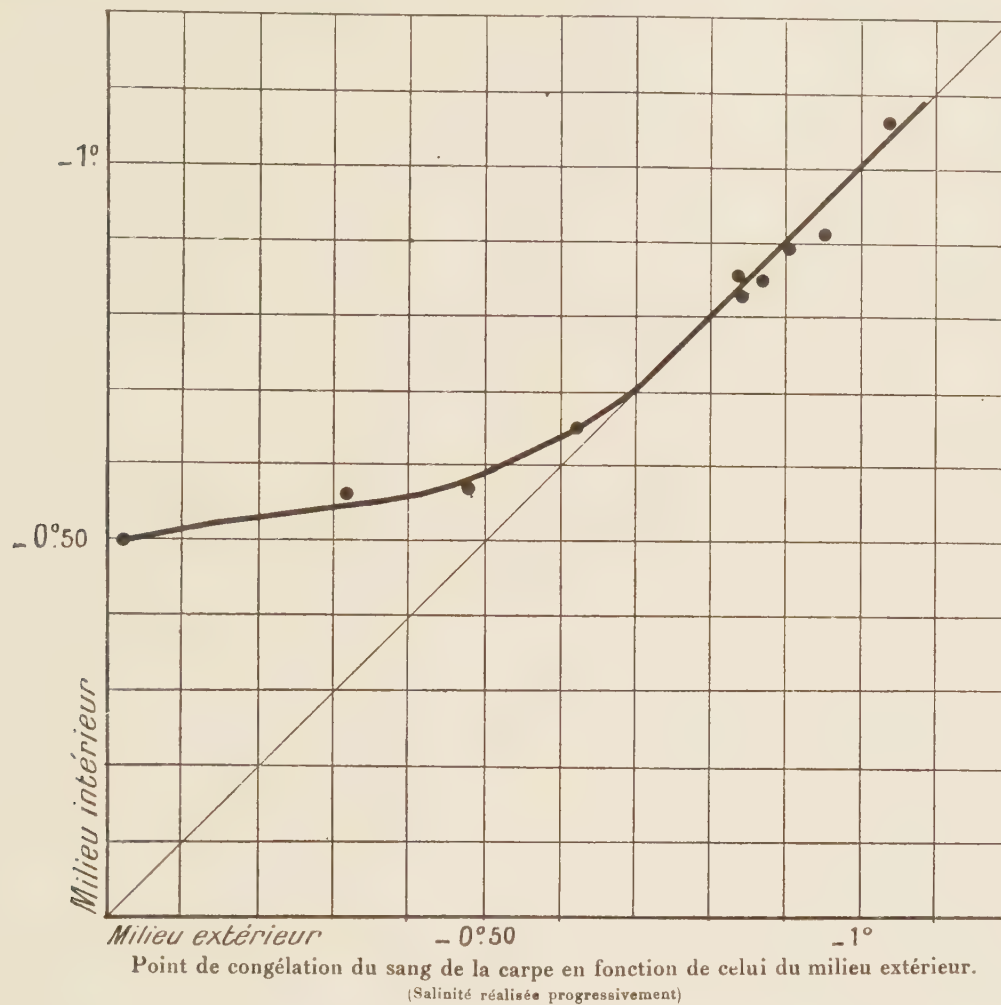
Quand l'eau de l'aquarium avait atteint la salinité désirée, on cessait d'ajouter du sel mais on maintenait encore le poisson dans le liquide pendant deux jours. Il était alors retiré, pesé et saigné. En général, c'est le sang complet défibriné qui a été cryoscopé. Dans trois expériences, les globules ont été éliminés et c'est le point de congélation du sérum que nous avons déterminé. Comme toujours, nous avons obtenu la même température que si nous avions opéré sur le sang complet. Dans ces trois cas, on a dosé le chlorure de sodium du sérum.

Le tableau et la courbe résument les résultats obtenus.

N°	Δ SOLUTION à la fin de l'expérience	Δ SANG de la Carpe	Na Cl DU SÉRUM de la Carpe	DURÉE DE L'EXPÉRIENCE ET RYTHME SUIVANT LEQUEL ON A AJOUTÉ LE SEL MARIN
1	— 0°02	— 0°50	6,1	»
2	— 0°32	— 0°56	»	15 g. par jour pendant 21 jours.
3	— 0°48	— 0°57	»	Solution saturée Na Cl goutte à goutte pendant 5 jours.
4	— 0°62	— 0°65	»	Solution saturée Na Cl goutte à goutte pendant 13 jours.
5	— 0°84	— 0°85	»	20 g. par jour pendant 50 jours.
6	— 0°84	— 0°83	11,7	20 g. par jour pendant 48 jours.
7	— 0°87	— 0°85	11,4	120 g. par jour pendant 6 jours, puis 20 g. par jour pendant 8 jours.
8	— 0°91	— 0°89	11,5	20 g. par jour pendant 19 jours, puis 30 g. par jour pendant 23 jours.
9	— 0°95	— 0°91	»	20 g. par jour pendant 50 jours.
10	— 1°04	— 1°06	»	Solution saturée Na Cl goutte à goutte pendant 12 jours.

Le fait qui se dégage immédiatement de ces documents, c'est que le milieu intérieur de la Carpe devient isotonique avec le liquide qui l'entoure dès que celui-ci a acquis une pression osmotique suffisamment élevée et voisine de $\Delta = -0°65$. A partir de ce point, la courbe représentative de la relation qui lie la pression osmotique du sang à celle du milieu extérieur se confond avec la bissectrice, lieu géométrique des points correspondant à une même pression osmotique dans les milieux intérieur et extérieur de l'animal. Avant que ce résultat ne soit atteint, le sang du poisson se concentre moins vite que la solution qui le baigne. Il en résulte que ce sang d'abord hypertonique au milieu extérieur lui devient isotonique vers $-0°65$. Cette isotonie subsiste ensuite quand la salinité de l'eau continue à augmenter. Il se produit donc aux environs de $-0°65$ un changement très important dans la loi régissant les échanges osmo-

tiques du poisson. Celui-ci, jusqu'alors capable de maintenir une différence de pression osmotique de part et d'autre de sa branchie, en devient incapable. Il subit passivement les modifications de concentration de son milieu extérieur.



On peut se demander pourquoi un phénomène analogue n'a pas été observé à la suite des expériences dans lesquelles la salinité extérieure augmentait brusquement.

Nous avons vu que pour une seule concentration, les deux milieux de l'animal étaient isotoniques. Si on continue à faire croître la salinité, le sang de la Carpe reste hypotonique vis-à-vis du liquide qui l'entoure. Nous pensons que cette hypotonicité n'est que transitoire et que si le poisson se maintenait en vie plus longtemps, il finirait par acquérir la même pression osmotique que son milieu extérieur. On comprend très bien que les échanges nécessitent un certain temps pour s'établir et si nous avons trouvé qu'il suffisait de 3 h. 30 pour les réaliser complètement dans les solutions relativement peu concentrées ($-0^{\circ}54$), rien ne nous autorise à penser que ce temps est suffisant quand le poisson est transporté dans des liquides plus salés. Autrement dit, la forte salinité du milieu extérieur, quand elle est réalisée brusquement, entraîne la mort du poisson avant que ses échanges soient terminés.

Au contraire, l'augmentation progressive de cette salinité lui permet de se maintenir en vie et d'accomplir ses échanges osmotiques jusqu'à ce que son milieu intérieur soit en état d'équilibre stable avec le liquide qui l'entoure. Il ne nous semble donc pas, à la suite de ces dernières recherches, que le mode suivant lequel la salinité est obtenue influe, par lui-même, sur la relation qui régit la pression osmotique du sang du poisson.

La preuve, c'est que les deux séries d'expériences conduisent à des valeurs identiques pour le Δ du sang de la Carpe tant que la salinité est assez faible pour que le poisson puisse, dans le cas où on le transporte dans la solution salée, vivre suffisamment de temps pour réaliser ses échanges et se mettre en équilibre avec son milieu extérieur. Cette condition est réalisée tant que le point cryoscopique de ce dernier ne s'abaisse pas au-dessous de $-0^{\circ}65$ environ. Au delà de cette concentration, la mort du poisson survient rapidement. Il est remarquable que cette concentration soit justement celle pour laquelle nous avons vu qu'un brusque changement survenait dans la relation régissant la pression osmotique du milieu intérieur de la Carpe. En définitive, soit au point de vue de la durée de survie des poissons, soit au point de vue des échanges entre les deux milieux de l'animal, la concentration de $-0^{\circ}65$ marque un changement profond dans l'allure de ces phénomènes.

Au cours de ces études sur l'adaptation lente, nous nous sommes demandé si la concentration du sang variait seule, ou bien si elle s'accompagnait d'une modification de composition chimique. Pour résoudre cette question nous avons dosé le Na Cl du sérum de quelques-unes de nos Carpes et nous avons déterminé le rapport $\frac{\text{Pression osmotique due au Na Cl}}{\text{Pression osmotique totale}}$. Si

ce rapport est identique à celui présenté par les Carpes normales, nous en concluons que la composition chimique relative du sang, au moins en ce qui concerne le chlorure de sodium, n'a pas changé. Ceci prouve que le poisson s'est simplement déshydraté, que sa branchie n'est perméable qu'à l'eau. Si, au contraire, nous trouvons ce rapport modifié, il faudra en déduire que la composition chimique du sérum a varié et que, par suite, un mouvement de sel s'est produit à travers la branchie.

Calculons donc ce rapport, pour les Carpes 6, 7 et 8 comme nous l'avons fait pour les poissons normaux.

NUMÉRO de la CARPE	Δ SÉRUM de la CARPE	Na Cl DU SÉRUM	Δ DU AU Na Cl	RAPPORT
				$\frac{\text{PRESSION OSMOTIQUE DUE AU NaCl}}{\text{PRESSION OSMOTIQUE TOTALE}}$
6	$-0^{\circ}83$	11,7	$-0^{\circ}725$	0,87
7	$-0^{\circ}85$	11,4	$-0^{\circ}707$	0,83
8	$-0^{\circ}89$	11,5	$-0^{\circ}71$	0,80

Pour les Carpes normales, ce rapport a toujours été trouvé compris entre 0,74 et 0,75. Par suite il n'est pas douteux que le séjour en eau salée augmente ce rapport. Non seulement la concentration du sang de la Carpe augmente mais sa composition chimique est modifiée puisqu'une plus grande part de sa pression osmotique est imputable au Na Cl. Le phénomène osmotique qui, pour ces concentrations du milieu extérieur, rend le sang du poisson isotonique avec la solution environnante ne se borne pas à une simple soustraction d'eau. Il altère la composition chimique du sérum.

IV. — Rôle des branchies dans les échanges entre les milieux intérieur et extérieur du Téléostéen d'eau douce

Dans les paragraphes précédents il a été dit incidemment que la branchie était le lieu des échanges entre le poisson et le milieu qui l'environne. Nous allons maintenant justifier cette affirmation.

Au cours de ses recherches ayant pour but de découvrir le mécanisme de la mort des animaux d'eau douce plongés dans l'eau de mer, PAUL BERT, pensant que cette mort était produite par une altération de la perméabilité de la branchie aux gaz, fut amené à suspendre une Tanche de telle manière que son corps plongeât seul dans l'eau de mer, la tête et, par suite, les branchies émergeant dans l'air. Il constata que le poisson était encore bien vivant alors qu'un autre placé tout entier dans le liquide salé était mort depuis longtemps. Cette expérience justifie les vues de P. BERT et montre que la branchie joue un rôle important dans les relations du poisson avec son milieu extérieur.

Plus récemment, SUMNER chercha à montrer le rôle important de la branchie dans les échanges osmotiques. Cet expérimentateur, au lieu de noter quelles modifications physico-chimiques du milieu intérieur du poisson entraînait une augmentation de la salinité de l'eau douce dans laquelle vivait primitivement l'animal, se contentait de déterminer ses variations de poids. Il fit deux séries d'expériences à l'aide d'un dispositif spécial lui permettant de mettre en contact le corps et les branchies d'une Carpe avec deux liquides différents. Dans la première série, le corps du poisson est placé dans une solution de sel marin dans l'eau douce et on fait circuler de l'eau douce autour des branchies. Malgré la grande concentration du liquide baignant le corps du poisson, SUMNER, à la fin de l'expérience qui avait duré plusieurs heures, ne constate aucune diminution de poids de l'animal. Alors, dans une deuxième série de recherches, il intervertit les liquides. C'est maintenant de l'eau douce qui entoure le corps de la Carpe et c'est la solution salée qui irrigue les branchies. Le poisson diminue très rapidement de poids, comme s'il était plongé tout entier dans la solution saline. SUMNER conclut que c'est à travers les branchies seulement que le poisson effectue ses échanges osmotiques avec le milieu extérieur. Le reste du corps n'y prend aucune part. Ces expériences sont tout à fait probantes.

Après avoir trouvé comment variait la pression osmotique du sang de la carpe en fonction de la salinité extérieure dans le cas habituel où le poisson est totalement immergé, nous avons réalisé de nouvelles expériences pour savoir par quelles parties du corps se faisaient ces échanges osmotiques.

Le travail de SUMNER nous était alors inconnu. Il ne porte d'ailleurs que sur les variations de poids et il n'est pas inutile de le recommencer en mesurant directement la pression osmotique du sang. Les expériences que nous avons entreprises sont des expériences d'adaptation brusque. Elles consistent à placer dans une solution de sel marin, tantôt la tête et les branchies d'une Carpe, tantôt au contraire le reste du corps. Après quelques heures de séjour, l'animal est saigné et on détermine le point de congélation de son sérum. S'il est identique à celui que l'on aurait obtenu en plongeant le poisson tout entier dans la solution, on en conclut que la partie du corps de l'animal qui était en contact avec le liquide est celle où se localisent les phénomènes osmotiques.

Voici maintenant la technique utilisée :

La Carpe est maintenue solidement dans une gouttière en zinc qui est placée verticalement dans l'aquarium contenant la solution saline.

Si l'on veut que le corps seul du poisson soit en contact avec le liquide, l'animal a la tête en l'air et le niveau du liquide de l'aquarium est tel qu'il affleure environ à un centimètre au-dessous de la partie inférieure des opercules des branchies. Ainsi celles-ci ne sont pas mouillées par la solution. Toutes les 45 minutes, le poisson, toujours immobilisé dans sa gouttière, est sorti du liquide et on mouille ses branchies avec quelques cm³ d'eau douce pour éviter leur dessèchement. On replace ensuite, comme précédemment, le poisson dans l'aquarium. Bien que pendant la plus grande partie du temps, l'animal ait ses branchies à l'air et qu'il soit dans une position fort incommode, il se maintient bien vivant pendant 6 heures environ.

Si l'on veut au contraire que les branchies de l'animal soient en contact avec l'eau salée, à l'exclusion du corps, le poisson est placé verticalement la tête en bas, et le niveau du liquide de l'aquarium est tel que les opercules des branchies soient complètement mouillées, le reste du corps émergeant dans l'air.

Première série d'expériences : Le corps de la Carpe, à l'exclusion des branchies, est seul en contact avec l'eau salée.

Le tableau suivant indique les résultats obtenus.

NUMÉRO	DURÉE DU SÉJOUR DU POISSON dans la solution	Δ de la SOLUTION	Δ du sérum DE LA CARPE	Na Cl DU SÉRUM en g. par l.	Δ DU SÉRUM DE LA CARPE dans le cas où le poisson aurait été tout entier dans la solution
1	5 h.	— 0°02	— 0°59	6,3	— 0°50
2	5 h.	— 0°48	— 0°63	6,3	— 0°58
3	4 h.	— 0°63	— 0°62	6,3	— 0°61
4	4 h. 30	— 0°84	— 0°63	6,34	— 0°70
5	6 h.	— 1°19	— 0°61	6,7	— 1°00

Il ressort immédiatement de ces documents que la pression osmotique du sang de la Carpe placée dans ces conditions est indépendante de la concentration du milieu extérieur. Le point de congélation est en effet très sensiblement le même pour le sérum de l'animal ayant vécu quelques heures en eau douce ou, au contraire dans une solution de $\Delta = -1^{\circ}19$. Mais on remarque aussi que cette température de congélation du sérum ($-0^{\circ}61$ en moyenne) est plus basse que celle que possède le sang d'une Carpe normale ($-0^{\circ}50$). Cette différence est tout à fait inattendue puisqu'elle se produit aussi bien quand le corps de la Carpe est plongé dans l'eau douce que dans une solution concentrée.

Nous pensons qu'elle est due au fait que les branchies ne sont pas irriguées en permanence pendant toute la durée des expériences. JOLYET et REGNARD ont montré jadis qu'à côté de la respiration gazeuse, les poissons possèdent une véritable respiration solide. Ils éliminent constamment par leurs branchies des quantités notables de carbonates et bicarbonates alcalins. Avec notre technique, cette élimination ne peut pas se produire puisque aucun courant de liquide ne circule dans l'appareil branchial, sauf pendant un temps très court et à des intervalles assez longs (1). Ces sels restent donc dans le milieu intérieur du poisson et élèvent sa pression osmotique. Telle est l'explication que nous proposons de cette augmentation de la pression osmotique du sang de toutes les Carpes dont le corps plonge seul

(1) Environ pendant une minute tous les trois quarts d'heure.

dans le liquide salé. Elle s'accorde avec le fait que la teneur en chlorure de sodium du sérum de toutes ces carpes est très sensiblement la même que celle que l'on mesure chez le poisson normal. Cette constance indique que le sang n'a pas subi une déshydratation. Son augmentation de pression osmotique est due à une augmentation de substances dissoutes (autres que le chlorure de sodium).

Voici les conclusions que l'on peut tirer de cette première série d'expériences :

1^o Les téguments recouvrant le corps de la carpe ne sont pas le lieu des échanges osmotiques du poisson. Ils sont imperméables à l'eau et aux sels puisque lorsqu'ils sont seuls en contact avec une solution saline, la pression osmotique de celle-ci est sans influence sur celle du sang de l'animal ;

2^o Le maintien à l'air des branchies du poisson provoque une augmentation de la pression osmotique de son sang. Cette augmentation ne s'accompagne pas d'une variation de la teneur en NaCl. Elle ne résulte pas d'une déshydratation.

Deuxième série d'expériences : La tête, et par suite les branchies, sont seules immergées dans l'eau salée.

Trois expériences ont été réalisées. Elles suffisent pour montrer que la pression osmotique du milieu intérieur de la Carpe est la même que si le poisson était plongé tout entier dans le liquide.

L'examen de ce tableau montre que le Δ du sérum de la carpe dont la tête est seule baignée par le liquide extérieur est pratiquement identique à celui que présenterait le sang du

NUMÉRO	DURÉE DU SÉJOUR DU POISSON dans la solution	Δ de la SOLUTION	Δ du sérum DE LA CARPE	Na Cl DU SÉRUM en g. par l.	Δ DU SÉRUM DE LA CARPE dans le cas où le poisson aurait été tout entier dans la solution
1	6 h. 15	— 0°02	— 0°53	6,2	— 0°50
2	4 h. 30	— 0°82	— 0°66	»	— 0°69
3	3 h. 45	— 0°87	— 0°68	7,2	— 0°71

poisson plongé en entier dans la solution (1). L'abaissement du point de congélation du sang s'accompagne d'une augmentation de sa teneur en NaCl.

Au point de vue osmotique, tout se passe comme si le poisson était tout entier dans la solution. Cela confirme la première des conclusions tirées de la première série d'expériences, à savoir que le corps de l'animal n'est le siège d'aucun échange.

Les phénomènes osmotiques nous apparaissent donc comme localisés dans la branchie. C'est la conclusion à laquelle était arrivé SUMNER par l'étude des modifications de poids.

(1) Les petites différences entre les chiffres des colonnes 4 et 6 sont imputables aux écarts individuels. Par exemple, parmi toutes les Carpes normales examinées, nous en avons rencontré une dont le Δ était justement — 0°53 et la teneur en Na Cl du sérum de 6,2.

CHAPITRE IV

Étude du Téléostéen marin

I. — Généralités

Dans ce chapitre, comme dans le précédent, il sera uniquement question des Téléostéens non adaptés aux changements de salinité. Les expériences qui vont être relatées dans les lignes qui suivent ont toutes été effectuées au Musée Océanographique de Monaco. C'est donc sur des poissons de la Méditerranée qu'elles ont porté. Le choix des animaux a été déterminé par la facilité de se les procurer et la taille moyenne des individus.

Nous avons utilisé pour nos recherches la Rascasse (*Scorpena scrofa*). La Murène (*Muraena helena*) et le Congre (*Conger vulgaris*.) Le choix de ce dernier animal permettra de faire une comparaison intéressante entre ses réactions osmotiques et celles d'un poisson très voisin de lui en organisation mais possédant la propriété d'être adapté aux changements de salinité, l'Anguille.

II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du sang du Téléostéen marin

BOTTAZZI, par son article sur « La pression osmotique du sang des animaux marins » a été le premier à publier le résultat des recherches de physiologie comparée sur la pression osmotique du sang. Comme nous avons déjà eu l'occasion de le dire, il utilisa le cryoscope. Ses recherches portèrent sur les Invertébrés et sur les Vertébrés. Parmi ces derniers deux poissons osseux furent l'objet de ses déterminations. Voici les points de congélation qu'il indique. Ils se rapportent au sérum :

<i>Charax puntazzo</i>	— 1°04
	— 1°035
<i>Cerna (Serranus) gigas</i>	— 1°035
	— 1°034

L'eau de mer de Naples où ces poissons avaient été pêchés se congelait à — 2°29. Il en conclut que la pression osmotique du sang des Téléostéens marins est sensiblement la moitié de celle de l'eau de mer dans laquelle ils vivent. Alors que le sang de tous les animaux qu'il avait jusque là examinés se congelait à la même température que l'eau de mer (Invertébrés et Sélaciens), il remarqua très justement que « chez les Téléostéens commence à se manifester l'indépendance dans laquelle se trouvent les conditions osmotiques des liquides internes de l'organisme, par rapport au milieu extérieur ».

La loi d'après laquelle la pression osmotique du sang des poissons marins était la moitié environ de celle de l'eau de mer, n'avait pour base que quatre déterminations sur deux espèces seulement de Téléostéens. Cette base était insuffisante pour autoriser une telle généralisation et peu de temps après la publication du travail de BOTTAZZI, RODIER, à Arcachon, trouva

cette loi en défaut. Il mesura la température de congélation du sérum de deux espèces de poissons provenant de l'Atlantique (1). Les voici :

<i>Lophius piscatorius</i>	— 0°68
	— 0°80
<i>Orthogoriscus mola</i>	— 0°80

Pour que la loi de BOTTAZZI fût exacte, l'eau de mer eût dû se congeler au plus bas vers — 1°60. Or on sait que l'eau de l'Atlantique se congèle au-dessous de — 2°. Les poissons examinés par RODIER provenaient de la haute mer et non du bassin. Ainsi la loi de BOTTAZZI n'est pas vérifiée par ces poissons. La suite de ce chapitre montrera que la pression osmotique du sang des Téléostéens marins est très sensiblement indépendante de celle de l'eau de mer qui les entoure. C'est par une pure coïncidence que le sang des poissons examinés par BOTTAZZI avait une concentration moléculaire moitié moindre que l'eau de mer.

LÉON FRÉDÉRICQ, vers la même époque, fit des mesures cryoscopiques sur les animaux marins. Il utilise le sang défibriné :

<i>Crenilabrus pavo</i>	— 0°76
	— 0°74
<i>Box salpa</i>	— 0°88
	— 0°82

En Amérique, GARREY trouva le point de congélation du sang de Congre compris entre — 0°80 et — 0°82.

La teneur en chlorure de sodium a été mesurée par RODIER en même temps que le Δ pour le sang de *Lophius piscatorius*. Il constata ainsi que le sérum se congelant à — 0°68 contenait 9,24 g. de Na Cl par litre et celui se congelant à — 0°80, 11,64 g. Les variations de la teneur en chlore sont parallèles à celles du Δ .

Un plus grand nombre d'espèces de poissons marins fut examiné par QUINTON au point de vue de la teneur en chlorure de sodium du sang. Voici les chiffres indiqués, toujours en grammes de Na Cl par litre de sérum.

<i>Conger vulgaris</i>	11,5
<i>Platessa vulgaris</i>	11,0
<i>Flessus vulgaris</i>	10,5
— —	11
<i>Zeus faber</i>	11
<i>Scomber scomber</i>	11,07
<i>Trachinus draco</i>	10,2
<i>Lophius piscatorius</i>	9,65
<i>Labrus bergylta</i>	9,6

Ainsi, d'après QUINTON, la teneur du milieu intérieur des poissons marins en chlorure de sodium oscille de 11,5 à 9,6 par litre.

Nous allons maintenant indiquer le résultat de nos recherches personnelles. Le point de congélation de l'eau de mer de Monaco a varié de — 2°12 à — 2°15 pendant la durée de notre travail.

Examinons ces documents :

(1) RODIER détermina en outre le point de congélation d'autres liquides que le sang et constata, comme on le savait déjà à cette époque, pour les Mammifères, que les différents liquides organiques se congèlent à des températures différentes.

Le point de congélation du sang de Congre (— 0°775 en moyenne) est très voisin de celui qu'indique GARREY (— 0°80 à 0°82). Par contre, la teneur en chlorure de sodium du sérum du même animal est, comme d'habitude et pour les mêmes raisons, plus faible que celle publiée par R. QUINTON (11,5 g.).

ESPÈCES	Δ SANG	Na Cl DU SÉRUM
Congre	— 0°78	»
	— 0°76	9,17
	— 0°79	9,8
Murène	— 0°76	»
	— 0°75	»
Rascasse	— 0°63	»

On remarque que le Congre et la Murène, qui font tous les deux partie de la même famille des Murénides, ont très sensiblement la même pression osmotique sanguine.

Le Δ du sang de la Rascasse est particulièrement élevé. De tous les Téléostéens marins examinés jusqu'à présent, tant par nous que par d'autres expérimentateurs, c'est ce poisson qui possède le sang le moins concentré. Sa pression osmotique n'est pas très éloignée de celle qui caractérise les Téléostéens d'eau douce.

En examinant toutes les observations cryoscopiques faites jusqu'à ce jour sur le sang des poissons osseux de la mer, on constate que son point de congélation est compris entre — 0°63 et — 1°04. Chez la plupart des espèces il est proche de — 0°80. Alors que chez les Téléostéens d'eau douce la pression osmotique variait peu d'une espèce à une autre (de quelques centièmes de degré de part et d'autre de — 0°50), on constate au contraire que celle des Téléostéens marins est beaucoup plus fonction de l'espèce. Au point de vue osmotique, le groupe des poissons osseux marins a moins d'homogénéité que celui des poissons d'eau douce. Quant à la teneur en chlorure de sodium du sang, les différents dosages montrent qu'elle est voisine de 10 g. par litre, mais qu'elle peut présenter des valeurs sensiblement différentes, ses variations étant parallèles à celles du point cryoscopique et dans le même sens.

Cette dernière remarque montre que le rapport $\frac{\text{Pression osmotique due au NaCl}}{\text{Pression osmotique totale}}$, doit, comme pour la Carpe, être beaucoup moins variable que chacun des facteurs qui le compose. Il eût été intéressant de le déterminer pour un grand nombre de poissons marins. Malheureusement nous n'avons déterminé simultanément le NaCl et le Δ que chez deux Congres et voici les valeurs auxquelles nous sommes conduit pour ce rapport :

N°	Δ SANG DU CONGRE	Na Cl SÉRUM DU CONGRE	Δ Dû AU NaCl	RAPPORT
1	— 0°76	9,17	— 0°57	0,75
2	— 0°79	9,8	— 0°61	0,76

Ce rapport est très voisin de celui que nous avons obtenu pour un Téléostéen d'eau douce.

Nous ne nous hasarderons pas à affirmer que ce rapport présente une valeur identique pour tous les Téléostéens, qu'ils habitent les eaux douces ou la mer, mais nous pensons que ce rapport éprouve une modification de valeur beaucoup plus faible que la pression osmotique quand on passe des poissons osseux d'eau douce à ceux de la mer. La composition chimique relative du sang de ces deux groupes de poissons est sensiblement la même. L'élément variable est la concentration. L'étude de l'Anguille nous fortifiera dans cette conclusion.

III. — Influence de la modification de la salinité de l'eau de mer sur la pression osmotique du sang des Téléostéens marins

Dans le chapitre sur le Téléostéen d'eau douce, nous avons montré que la pression osmotique de son sang était fonction de la salinité extérieure. En est-il de même pour le poisson osseux marin?

BOTTAZZI avait posé comme loi que la pression osmotique du milieu intérieur des Téléostéens marins était environ la moitié de celle de l'eau de mer. Nous avons vu que cette relation est fautive et que chaque espèce possède une concentration sanguine propre.

QUINTON s'était déjà posé la question qui nous occupe et, pour la résoudre, il déterminait les poids successifs que présentaient des Téléostéens marins dont on dessalait progressivement le milieu extérieur. Il ne constata que des variations de poids très peu notables, tantôt dans le sens d'une augmentation, tantôt dans le sens d'une diminution de poids. Il en conclut que ces poissons ne sont le siège d'aucun phénomène osmotique.

SUMNER, en Amérique, entreprit vers la même époque un travail analogue. Comme QUINTON, il décèle les échanges osmotiques par les variations de poids de l'animal. Par cette méthode, il trouva qu'en général, le poids du Téléostéen marin reste constant quand on modifie la salinité de l'eau de mer. Cependant, quelques espèces lui montrèrent des variations de poids notables. Il fit en plus cette constatation importante que, placés dans de l'eau douce, les poissons osseux marins y abandonnent des quantités assez notables de chlorure de sodium, même ceux dont le poids ne varie pas à la suite de ce transfert. Ayant dosé le chlorure de sodium des tissus du poisson, avant et après son transfert, il vit que les tissus avaient perdu une partie de leur NaCl. Ses dosages ne portent que sur les tissus. Le sang n'a été l'objet d'aucune détermination de sa part.

Récemment, M^{lle} GUEYLARD effectua elle aussi des pesées de poissons marins placés dans des mélanges d'eau de mer et d'eau douce. Après un séjour de 48 heures dans un mélange de $\Delta = -1^{\circ}02$, deux *Cottus bubalis* avaient gagné environ 7 % de leur poids initial.

De toutes ces recherches, il résulte que la plupart des poissons marins n'éprouvent pas d'augmentation de poids quand on les transporte dans un milieu hypotonique à l'eau de mer. Quelques-uns, dont *Cottus bubalis*, font exception à cette règle. Les recherches de SUMNER montrent en outre que des échanges de sels peuvent se produire entre le poisson et son milieu sans que le poids de l'animal en soit affecté. Aucun des expérimentateurs précédents n'a cherché à voir, par des mesures directes, si la pression osmotique du sang des Téléostéens se modifiait quand on diminuait la salinité de l'eau de mer qui les environne. Nous avons réalisé un certain nombre d'expériences afin d'élucider cette question.

La technique utilisée est exactement la même que celle qui a été employée pour la Carpe. Toutes les expériences réalisées sont des expériences où la salinité varie brusquement.

Les poissons, conservés depuis quelques jours dans un aquarium à eau de mer courante,

sont transportés dans des mélanges d'eau de mer et d'eau douce, en proportions variables suivant le Δ que l'on veut obtenir, parfois même dans de l'eau douce seule. Le volume du liquide est d'environ vingt-cinq litres.

La durée du séjour des poissons dans les mélanges a toujours été supérieure à 5 heures et souvent on ne les retirait que lorsqu'ils commençaient à présenter des apparences morbides.

Dès le début de ce travail, nous avons remarqué la grande résistance des Rascasses vis-à-vis de l'eau douce. Ainsi l'une d'elles était très vivante après un séjour de 18 heures dans ce milieu. Une autre n'a succombé à l'hypotonicité de ce même liquide qu'au bout de 60 heures, bien que le passage de l'eau de mer à l'eau douce fût réalisé brusquement. Cette grande résistance de la Rascasse n'est peut-être pas sans rapport avec la faible pression osmotique de son sang qui, comme nous l'avons vu, se congèle à $-0^{\circ}63$. En général les Téléostéens marins (1) succombent en peu de temps, en quelques heures au maximum, quand on les place dans l'eau douce. D'après PAUL BERT, la mort des poissons marins survient rapidement quand la salure de l'eau de mer a diminué du tiers de sa valeur habituelle. Certains cependant présentent une survie plus longue. H. DE VARIGNY a signalé que le *Cottus bubalis* peut vivre plusieurs jours dans des mélanges d'eau de mer et d'eau douce de faible salinité et GUITEL a conservé vivants pendant deux mois des *Lepadogaster Gouanii* placés dans un mélange de 5 parties d'eau douce pour une d'eau de mer (de $\Delta = -0^{\circ}35$ environ). M^{lle} GUEYLARD a, ces temps derniers, repris l'étude de la résistance de ces deux poissons. Elle ne parvint pas à conserver en vie plus de 48 heures les *Cottus bubalis* placés dans de l'eau douce. Quant aux *Lepadogaster Gouanii*, s'ils résistent mieux que les *Cottus* dans les mélanges dont le Δ est inférieur à $-0^{\circ}25$, par contre, ils succombent plus vite dans l'eau douce, la survie maxima n'ayant jamais excédé 12 heures. Nous avons vu plus haut que les Rascasses pouvaient rester vivantes 60 heures dans l'eau douce. Cette résistance, quoique supérieure à celle du *Cottus bubalis*, est du même ordre de grandeur qu'elle. Les deux espèces, Cottus et Rascasses, se ressemblent au point de vue morphologique et anatomique. Cette grande résistance à l'eau douce les rapproche au point de vue physiologique. D'ailleurs, parmi les *Cottus*, une variété est adaptée aux changements brusques de salinité, c'est *Cottus grænlandicus* (2), qui vit dans les fjords du Spitzberg, où la salinité varie rapidement d'un point à un autre.

N ^o	ESPÈCES	Δ DU MÉLANGE D'EAU DE MER et d'eau douce	Δ DU SANG DU POISSON	DURÉE DU SÉJOUR DU POISSON dans le mélange	ÉTAT DU POISSON À SA SORTIE du mélange
1	Congre.	$-2^{\circ}14$	$-0^{\circ}77$	»	Normal.
2	id.	$-1^{\circ}18$	$-0^{\circ}75$	5 heures.	Bon.
3	id.	$-0^{\circ}73$	$-0^{\circ}77$	7 heures.	Bon.
4	id.	$-0^{\circ}02$	$-0^{\circ}72$	5 heures.	Très mauvais.
5	Murène.	$-2^{\circ}14$	$-0^{\circ}76$	»	Normal.
6	id.	$-0^{\circ}30$	$-0^{\circ}76$	5 h. 30	Assez bon.
7	Rascasse.	$-2^{\circ}14$	$-0^{\circ}63$	»	Normal.
8	id.	$-1^{\circ}04$	$-0^{\circ}64$	25 heures.	Très bon.
9	id.	$-0^{\circ}02$	$-0^{\circ}63$	18 h. 30	Très bon.

(1) Il s'agit uniquement de ceux qui ne sont pas adaptés aux changements de salinité.

(2) *Cottus grænlandicus* est une variété de *Cottus scorpio*. PORTIER a fait de curieuses remarques d'ordre physico-chimique sur le sang de *Cottus grænlandicus*.

Le tableau précédent résume les expériences que nous avons faites pour déceler l'influence possible de la salinité de l'eau de mer sur la concentration du milieu intérieur des Téléostéens marins.

Il ressort immédiatement à la lecture de ces résultats que le milieu intérieur des Téléostéens marins étudiés possède une pression osmotique remarquablement constante, indépendante de celle du liquide qui les entoure.

Pour la Rascasse et la Murène nous trouvons que le sang se congèle à la même température, à un centième de degré près, que le poisson vive dans la mer ou qu'il vienne de séjourner plusieurs heures dans des mélanges d'eau de mer et d'eau douce de très faible salinité.

Pour le Congre, nous observons une légère différence (0°05) entre le point cryoscopique du sang de l'animal normal et celui du poisson ayant vécu 5 heures dans l'eau douce. Cette différence paraît être en dehors des écarts individuels. Elle est très faible.

Si nous tracions la courbe représentant le Δ du sang des divers Téléostéens marins étudiés, en fonction de celui de l'eau de mer qui les entoure, nous obtiendrions une droite parallèle à l'axe des abscisses.

Ainsi donc, au point de vue des échanges osmotiques, une grande différence sépare le Téléostéen d'eau douce du Téléostéen marin. Alors que la concentration du milieu intérieur du premier dépend de celle de son milieu extérieur, celle du sang du poisson osseux marin reste fixe, quelles que soient les modifications de salinité que subisse l'eau de mer qui l'environne.

Il serait intéressant de répéter ces expériences en diminuant progressivement la pression osmotique de l'eau de mer afin de pouvoir laisser beaucoup plus longtemps les poissons en contact avec un milieu extérieur dessalé. Nous ne pensons pas cependant que de telles expériences conduisent à des résultats bien différents de ceux qui résultent de notre travail où la salinité a toujours varié brusquement. Une des raisons qui nous engage à penser ainsi est la suivante : GARREY a déterminé, en Amérique, le point de congélation du sang de Congre et il a trouvé un chiffre très voisin du nôtre. Or, nos Congres provenaient de la Méditerranée dont l'eau se congelait à $-2^{\circ}14$. Au contraire, ceux de GARREY avaient été capturés dans un endroit où l'eau de mer se congelait vers $-1^{\circ}82$, comme il l'indique lui-même.

Bien que ces deux séries de Congres aient vécu dans des eaux de salinité sensiblement différente, leur sang avait même point cryoscopique, à très peu près.

La pression osmotique du sang des Téléostéens marins apparaît comme remarquablement fixe et indépendante de la salinité de l'eau qui les entoure.

CHAPITRE V

Étude d'un Téléostéen adapté aux changements de salinité

I. — Généralités

Jusqu'à présent nous n'avons examiné que des poissons vivant normalement dans un milieu de salinité bien déterminée et constante, l'eau douce ou l'eau de mer. Nous allons maintenant étudier un Téléostéen pouvant vivre indifféremment dans ces deux liquides et nous verrons comment cette adaptation modifie le rythme des échanges osmotiques du poisson avec son milieu extérieur. Ayant constaté les différences de réaction entre les Téléostéens adaptés aux changements de salinité et ceux qui ne le sont pas, nous essayerons de les expliquer. Nous avons choisi pour cette étude l'Anguille, qui, comme on le sait, se rencontre à la fois dans l'eau salée et dans l'eau douce et qui supporte parfaitement bien le transport brusque d'un milieu dans un autre de salinité très différente. Nous expliquerons plus loin la raison de ce choix.

Nous avons vu, au début de cet ouvrage, que les phénomènes de l'adaptation aux changements de salinité avaient été étudiés d'une manière très complète par M^{lle} GUEYLARD sur l'Épinoche. Bien antérieurement à ce travail, un naturaliste américain, GREENE s'était occupé de la même question. Il avait cherché si la concentration du sang du Saumon est la même lorsque l'animal vit dans la mer ou, au contraire, lorsqu'il remonte dans les cours d'eau au moment du frai. Il trouva que le sang des individus capturés en mer (de $\Delta = -1.924$) avait un point de congélation de -0.76 (moyenne de 18 déterminations dont les extrêmes étaient -0.70 et -0.811). Il examina ensuite le sang de Saumons pêchés en eau douce, soit avant qu'ils aient atteint les lieux de ponte, soit au contraire dans les frayères. Dans le premier cas, la pression osmotique du sang était à 3,3 % près identique à celle que l'on mesure chez l'animal pris en mer.

GREENE vit en effet que le sang se congelait à -0.737 . Il constata, par contre, des différences beaucoup plus notables lorsque l'on utilise des poissons capturés sur les lieux de ponte. La moyenne de toutes les déterminations cryoscopiques qu'il effectua sur le sang de tels Saumons fut de -0.628 , ce qui correspond à une concentration moléculaire inférieure de 17,6 % à celle que présente le sang du même poisson vivant dans l'eau de mer. GREENE vit en outre qu'il existait des différences sexuelles notables car le Δ du sang des mâles est en moyenne de -0.668 , alors que celui des femelles est seulement de -0.610 . L'auteur pense que la plus grande diminution de pression osmotique du sang des femelles comparativement à celle des mâles est en rapport avec le fait qu'au moment de la reproduction les ovaires subissent des modifications plus considérables que les testicules. Parmi les représentants d'un même sexe, on trouve des différences individuelles notables qui peuvent atteindre 0.1 de part et d'autre de la moyenne indiquée et surtout chez les mâles. GREENE remarque que la pression osmotique est d'autant plus diminuée que le poisson est en moins bon état. Ainsi, le sang d'un vieux mâle sur le point de mourir se congelait à -0.518 , alors que celui d'un autre en pleine

vigueur avait comme point cryoscopique — 0°705. L'auteur se demande pourquoi, parmi les individus capturés en eau douce, ceux qui proviennent des endroits de ponte ont un sang moins concentré que ceux qui n'y sont pas encore arrivés. On peut penser que ce fait provient d'une différence dans la durée de séjour en eau douce. Bien que l'on ne sache pas exactement le temps que mettent les Saumons pour atteindre les lieux de ponte, GREENE pense que les poissons pêchés dans les frayères étaient depuis plusieurs semaines dans l'eau douce, alors que ceux qui ne les avaient pas encore atteints n'avaient quitté la mer que depuis quelques jours. Indépendamment des échanges osmotiques possibles, une autre cause peut aussi expliquer la diminution de concentration du sang des Saumons. Ces poissons ne s'alimentant pas pendant toute la période de leur migration, l'absence de nourriture et les métabolismes importants qui se produisent pendant le séjour de 8 à 12 semaines du poisson en eau douce, sont probablement suffisants pour rendre compte de cette modification de la pression osmotique du sang qui peut ainsi s'expliquer indépendamment de la variation de salinité du milieu extérieur.

Ces recherches montrent que les poissons migrateurs utilisés au moment de la période du frai sont un très mauvais objet pour l'étude de l'adaptation aux changements de salinité. On ne sait, en effet, quelle part revient au milieu extérieur dans la variation de concentration éprouvée par le sang de l'animal.

C'est cette remarque qui nous a conduit à choisir l'Anguille comme matériel pour nos recherches car ce poisson est adapté aux changements de salinité en dehors de la période où il se reproduit. Lorsque l'on modifiera la salinité du liquide entourant ce poisson, la variation de pression osmotique qu'éprouvera le sang sera uniquement attribuable au changement de concentration du milieu extérieur. Les expériences que nous allons réaliser avec l'Anguille seront ainsi comparables à celles que nous avons effectuées sur les autres Téléostéens. Tel ne serait pas le cas si nous utilisions, comme GREENE, des poissons migrateurs au moment de la période du frai.

II. — Pression osmotique normale et teneur en NaCl du sang de l'Anguille

Le milieu intérieur de l'Anguille a été peu étudié au point de vue qui nous intéresse. HÆBER indique dans son *Traité* que le sang de ce poisson se congèle entre — 0°57 et — 0°69. Quinton dosa le chlorure de sodium contenu dans le sérum. Il en trouva 6,6 g. par litre quand l'Anguille vit dans l'eau douce et 9,19 g. quand elle est pêchée dans l'eau de mer. Ce sont les seules indications que nous ayons trouvées sur cet animal.

Dans ce paragraphe il ne sera question que des Anguilles vivant dans l'eau douce. Nous ne nous occuperons de celles capturées dans l'eau salée qu'après avoir étudié comment varie la concentration du sang de l'Anguille à la suite de son transfert dans des milieux de différentes salinités.

Les Anguilles d'eau douce qui nous ont servi pour ces expériences avaient été achetées au halles de Paris. Elles étaient conservées quelque temps dans les aquariums à eau courante de l'Institut Océanographique avant d'être utilisées. Elles ont toujours refusé la nourriture qu'on leur présentait. Leurs poids oscillait entre 500 et 900 grammes et un seul individu fournissait au moins 5 à 6 cm³ de sang. Les globules étaient éliminés par centrifugation et c'est toujours le point cryoscopique du sérum qui a été déterminé.

Voici les résultats que nous avons obtenus pour la température de congélation et la teneur en chlorure de sodium. Rappelons que l'eau douce se congelait à $-0^{\circ}02$.

NUMÉRO	POINT DE CONGÉLATION du sérum	TENEUR DU SÉRUM EN NaCl en grammes par litre
1	— $0^{\circ}66$	7,9
2	— $0^{\circ}66$	
3	— $0^{\circ}63$	
4	— $0^{\circ}61$	
5	— $0^{\circ}59$	
6	— $0^{\circ}57$	6,5
Moyenne . .	— $0^{\circ}62$	

Il ressort de ce tableau que la pression osmotique du milieu intérieur de l'Anguille vivant en eau douce est très sensiblement plus élevée que celle des autres Téléostéens ayant le même habitat. Nous avons vu en effet que le point de congélation du sang de ces poissons est en moyenne de $-0^{\circ}50$. Pour l'Anguille au contraire, il s'abaisse à $-0^{\circ}62$. Nous constatons en outre chez cet animal, des différences individuelles très notables dans la concentration moléculaire du sérum dont le point cryoscopique oscille entre $-0^{\circ}57$ et $-0^{\circ}66$, soit un écart possible de 16 % autour de la valeur moyenne. Chez les autres Téléostéens nous n'avons pas observé de différences aussi accentuées. Elles ne dépassaient pas 8 %.

Nous n'avons fait que deux dosages de chlorure de sodium. On peut remarquer que la teneur en NaCl est également variable d'un individu à un autre mais qu'elle est d'autant plus élevée que la pression osmotique est elle-même plus forte. Nous reviendrons dans un instant sur ce point.

Les six Anguilles que nous avons utilisées pour les déterminations consignées dans le tableau ci-dessus provenaient de trois lots différents. Les poissons 1 et 2 faisaient partie d'un même lot, de même 3 et 4 d'une part et les deux derniers d'autre part. Il apparaît donc que le point de congélation du sang des deux individus d'un même lot est à peu près le même et que les différences s'observent surtout lorsque l'on passe d'un lot à un autre. Nous ignorons la raison de ce fait mais les Anguilles étant achetées aux halles de Paris à différentes époques, il est probable que les trois lots ne provenaient pas du même endroit. On peut supposer que cette diversité d'origine est l'une des causes des différences observées dans la concentration moléculaire du milieu intérieur, mais d'autres peuvent être invoquées, comme la saison, l'âge des individus, leur état de nutrition, etc... Nous n'avons pas recherché quelle pouvait être l'influence de ces divers facteurs. Rappelons-nous simplement ce fait, que nous mettrons bientôt à profit, que les Anguilles d'un même lot diffèrent peu au point de vue de la pression osmotique de leur sérum.

Nous avons vu que GREENE avait trouvé le point de congélation du sang de Saumon assez variable d'un échantillon à un autre puisqu'il est compris entre $-0^{\circ}70$ et $-0^{\circ}81$. On peut se demander si ce n'est pas une propriété générale du sang des poissons adaptés aux changements de salinité de n'avoir pas une concentration moléculaire aussi bien déterminée que celle des autres poissons.

L'examen du tableau résumant nos mesures sur l'Anguille normale montre un certain parallélisme entre le point cryoscopique du sérum et sa teneur en chlorure de sodium. Nous allons maintenant préciser cette relation et, pour cela, calculer quelle part revient à cette substance dans l'établissement de la pression osmotique. Nous n'avons malheureusement dosé le Na Cl que dans le sang de deux Anguilles, mais elles offraient l'avantage de posséder des sérums de concentration sensiblement différente. La dernière colonne à droite de ce tableau montre que le rapport $\frac{\text{Pression osmotique due au Na Cl}}{\text{Pression osmotique totale}}$ est beaucoup plus fixe que la pression osmotique elle-même. Alors que le point de congélation passe de $-0^{\circ}66$ à $-0^{\circ}57$, le rapport précédent ne diminue que de 0,74 à 0,72, soit une variation d'environ 3 % contre une baisse de concentration moléculaire totale de 16 %. Ceci indique que le milieu intérieur des Anguilles examinées diffère surtout par sa plus ou moins grande teneur en eau, mais que sa composition chimique *relative*, au moins en ce qui concerne le chlorure de sodium, est très peu variable. Nous avons observé un fait analogue à propos des Carpes normales.

Remarquons que la valeur du rapport envisagé est la même pour l'Anguille que pour les autres Téléostéens marins ou d'eau douce. A peu près les trois quarts de la concentration moléculaire du sang sont produits par le chlorure de sodium.

NUMÉRO	Δ DU SÉRUM	Na Cl DU SÉRUM	Δ Dû AU Na Cl	PRESSION OSMOTIQUE DUE AU NaCl
				PRESSION OSMOTIQUE TOTALE
1	$-0^{\circ}66$	7,9	$-0^{\circ}49$	0,74
6	$-0^{\circ}57$	6,5	$-0^{\circ}41$	0,72

III. — Variation de la concentration du sang de l'Anguille sous l'influence del'accroissement de salinité du milieu extérieur

Nous avons vu dans les chapitres précédents que la pression osmotique du sang des Téléostéens d'eau douce était fonction de celle du liquide qui les entourait, et qu'au contraire, celle du milieu intérieur des Téléostéens marins en était indépendante. Comment, dans les mêmes conditions, le sang de l'Anguille va-t-il se modifier, ce poisson étant à la fois un Téléostéen d'eau douce et un Téléostéen marin? Telle est la question que nous allons essayer de résoudre dans ce paragraphe.

La technique de ces recherches est la même que celle utilisée pour l'étude des autres poissons osseux. Des Anguilles sont placées dans des solutions plus ou moins concentrées de sel marin et, au bout d'un temps suffisant pour que leur milieu intérieur soit en équilibre d'échange avec le liquide qui les baigne, on les retire et on détermine le point de congélation de leur sérum.

Une difficulté que nous n'avons pas rencontrée jusqu'ici se présente au cours de ces expériences. Elle provient de ce que toutes les Anguilles, avant leur transport dans l'eau plus ou moins salée, n'ont pas exactement la même pression osmotique sanguine. Il en résulte que des expériences faites sur différentes Anguilles ne sont pas tout à fait comparables. Par exemple, si l'on plaçait dans la même solution saline, les Anguilles 1 et 6 du tableau précédent (dont le Δ du sang est $-0^{\circ}66$ et $-0^{\circ}57$), on pourrait penser *a priori* que le sérum des

deux poissons n'aura pas, après l'expérience, une même température de congélation. Pour éviter le plus possible cette cause d'irrégularité, nous nous sommes servi, dans toute la série de ces expériences, d'Anguilles provenant d'un même lot. Nous en avons prélevé deux au hasard dont nous avons mesuré le point cryoscopique du sérum. Ce sont les Anguilles 3 et 4 du tableau de la page 65. On voit que les températures de congélation ne diffèrent que de $-0^{\circ}02$. On peut donc penser que les poissons de ce lot ne présentent pas de trop grandes différences individuelles. Celles-ci apparaîtront, au moment où nous tracerons la courbe représentant la concentration du milieu intérieur en fonction de celle du milieu extérieur, sous forme de points aberrants s'écartant de cette courbe.

Il faut, avant d'entreprendre ces recherches, déterminer quel est le temps nécessaire au milieu intérieur pour se mettre en équilibre d'échange avec le liquide qui entoure l'animal. Nous avons vu en étudiant les Téléostéens non adaptés aux changements de salinité que les poissons d'eau douce se mettaient rapidement en équilibre avec le milieu ambiant, tant que celui-ci n'était pas trop concentré. Quelques heures suffisent pour que ce résultat soit atteint. Par contre, la concentration du sang des Téléostéens marins ne varie pas à la suite du séjour de l'animal dans l'eau douce prolongé jusqu'à ce que sa mort survienne.

Voici les expériences entreprises sur l'Anguille :

a) Solution relativement peu concentrée de $\Delta = -0^{\circ}63$.

Deux Anguilles sont placées dans ce liquide. L'une est retirée au bout de 6 heures. Son sérum se congèle à $-0^{\circ}68$. L'autre reste 54 heures. La température de congélation de son sérum est $-0^{\circ}69$. La différence de $0^{\circ}01$ est pratiquement négligeable et 6 heures sont suffisantes pour que l'Anguille ait modifié d'une façon définitive la pression osmotique de son milieu intérieur.

b) Solution concentrée de $\Delta = -2^{\circ}35$.

Le sérum d'une Anguille retirée après un séjour de 1 h. 30 se congèle à $-0^{\circ}86$. Celui d'un autre individu maintenu 6 heures dans la même solution a le même point cryoscopique. Cette expérience montre avec quelle rapidité l'Anguille se met en équilibre d'échange avec le liquide ambiant. Ici 1 h. 30 suffisent pour arriver à ce résultat. Une troisième Anguille a été saignée après un séjour de 45 minutes. Son sérum ne se congelait qu'à $-0^{\circ}79$. L'équilibre n'était donc pas atteint. Si l'on admet que le point cryoscopique du sérum d'Anguille était primitivement de $-0^{\circ}62$ et si l'on remarque que l'équilibre est réalisé quand ce point s'est abaissé à $-0^{\circ}86$, c'est-à-dire après avoir subi une variation de $0^{\circ}86 - 0^{\circ}62 = 0^{\circ}24$, on voit qu'au bout de 45 minutes une augmentation de pression osmotique correspondant à $0^{\circ}79 - 0^{\circ}62 = 0^{\circ}17$ était déjà réalisée, représentant les $\frac{17}{24}$ de la variation totale ou 71 %.

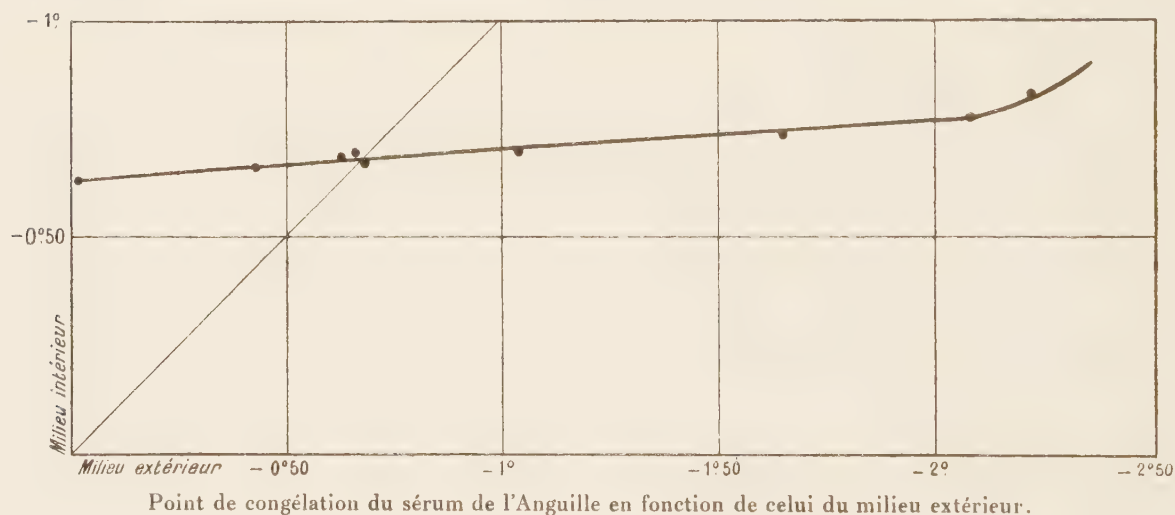
Ces diverses expériences montrent que l'Anguille se met très rapidement en équilibre d'échange osmotique avec le milieu extérieur, même lorsque celui-ci possède une concentration très élevée correspondant à $\Delta = -2^{\circ}35$, c'est-à-dire supérieure à celle de l'eau de mer. Quelques heures de séjour sont largement suffisantes pour que cet équilibre soit réalisé. Dans les expériences que nous allons maintenant exposer, la durée du séjour a été prolongée jusqu'à 6 heures, sauf lorsque la salinité du liquide ambiant était telle que le poisson ne pouvait y résister aussi longtemps.

P. BERT a remarqué, et nous avons relaté ce fait au chapitre I, que les Anguilles ne survivaient à leur transport dans l'eau de mer qu'à la condition de respecter soigneusement la couche protectrice de mucus qui entoure leur corps. Aussi avons-nous évité le plus possible

de toucher aux Anguilles pendant la durée des expériences et c'est toujours à l'aide d'une épauissette et non d'un torchon que nous les avons transportées d'un liquide dans un autre.

Les résultats des expériences sont consignés dans le tableau suivant :

NUMÉRO	POINT DE CONGÉLATION de la solution	POINT DE CONGÉLATION du sérum	DURÉE DU SÉJOUR dans l'eau salée	ÉTAT DU POISSON A LA FIN DU SÉJOUR
1	— 0°02	— 0°62	»	Très bon
2	— 0°43	— 0°66	6 heures	id.
3	— 0°63	— 0°68	id.	id.
4	— 0°66	— 0°69	id.	id.
5	— 0°68	— 0°67	id.	id.
6	— 1°04	— 0°70	id.	id.
7	— 1°65	— 0°74	id.	id.
8	— 2°08	— 0°78	30 heures	id.
9	— 2°22	— 0°83	6 heures	id.
10	— 2°35	— 0°86	id.	id.
11	— 2°53	— 0°90	3 heures	Mauvais
12	— 2°70	— 1°31	2 h. 30	Très mauvais
13	— 3°18	— 1°17	3 heures	id.



L'examen de ces documents montre que la pression osmotique du sang de l'Anguille n'est pas constante comme celle des Téléostéens marins, mais dépend de celle du liquide extérieur. Ce fait rapproche l'Anguille des autres Téléostéens d'eau douce, mais remarquons dès maintenant que l'influence de la salinité du milieu ambiant sur la concentration du sang est beaucoup plus faible chez l'Anguille que chez les autres poissons d'eau douce non adaptés, la Carpe en particulier. En effet, dans la zone qui s'étend de l'eau douce à l'eau de mer (c'est-à-dire jusque vers — 2°10) la courbe est une droite peu inclinée sur l'axe des abscisses. Cette faible pente indique qu'à une grande variation de pression osmotique du milieu extérieur ne

correspond qu'une légère variation de celle du milieu intérieur. C'est ainsi que le point de congélation du sérum passe seulement de $-0^{\circ}62$ à $-0^{\circ}78$ quand celui du liquide entourant l'animal s'abaisse de $-0^{\circ}02$ (eau douce) à $-2^{\circ}08$ (qui est à peu près le Δ de l'eau de mer). Une variation de $2^{\circ}06$ dans la température de congélation du milieu extérieur n'a entraîné qu'un abaissement de $0^{\circ}78 - 0^{\circ}62 = 0^{\circ}16$ dans celle du sang. Sa modification de pression osmotique n'est donc que les $\frac{16}{206}$ de celle subie par le milieu extérieur, soit à peu près le treizième.

Remarquons incidemment que le Δ de $-0^{\circ}78$ que possède le sérum de l'Anguille après son transfert dans une solution isotonique à l'eau de mer est justement le même que celui que nous avons mesuré dans le sang du Congre et de la Murène, Téléostéens marins très voisins en organisation de l'Anguille.

Dès que la concentration du milieu extérieur de l'Anguille dépasse d'une façon notable celle de l'eau de mer, la courbe se relève brusquement. Une augmentation de la salinité du liquide ambiant produit, dans cette zone, une variation bien plus forte de la concentration du sang. Manifestement l'anguille n'est pas adaptée à des salinités aussi considérables et sa mort survient rapidement, en quelques heures. Si l'on examine les globules rouges du sang, on constate, qu'un grand nombre d'entre eux sont déformés et présentent une apparence fusiforme, triangulaire, etc... indiquant que le milieu vital a acquis une concentration moléculaire incompatible avec la vie normale des éléments anatomiques.

En résumé, ces expériences établissent que, tant que la salinité du milieu externe n'est pas supérieure à celle que l'Anguille peut supporter, celle-ci manifeste une indépendance notable de son milieu intérieur dont la concentration ne varie que fort peu quand celle du liquide ambiant subit de grandes modifications. C'est là, sans doute, un des caractères importants de l'adaptation aux changements de salinité. Cette indépendance cesse quand on transporte l'animal dans un milieu de salinité à laquelle il n'est pas adapté.

Par la fixité relative de son milieu vital, l'Anguille se rapproche à la fois des Téléostéens marins qui sont sans relation osmotique avec le milieu extérieur et des Téléostéens d'eau douce dont la concentration du sang est largement fonction de celle du liquide environnant.

IV. — Influence d'une longue durée de séjour en eau salée

Après avoir constaté que le point cryoscopique du sérum de l'Anguille d'eau douce s'abaissait à $-0^{\circ}78$ quand on laissait séjourner cet animal dans une solution de sel marin à peu près isotonique à l'eau de mer, nous pensions que cette température de congélation devait être aussi celle du sérum des Anguilles capturées en mer. Nous étions fortifié dans cet opinion par le fait que ce Δ de $-0^{\circ}78$ est également celui du sang du Congre et de la Murène qui appartiennent à la même famille que l'Anguille. Aussi dès que les circonstances nous l'ont permis, nous avons déterminé le point de congélation du sérum d'Anguilles de mer.

Un premier lot de ces poissons a été pêché dans le bassin d'Arcachon. Ils étaient de petite dimension et nous avons dû réunir le sang provenant de 4 individus pour obtenir la quantité de sérum nécessaire aux mesures cryoscopiques. Avant d'être sacrifiées, ces Anguilles ont été conservées quelques jours dans de l'eau de mer du bassin d'Arcachon de $\Delta = -1^{\circ}84$. Le point de congélation du sérum fut trouvé de $-0^{\circ}82$. Il est sensiblement plus bas que celui que l'on déduit de la courbe de la page 68 quand le milieu extérieur se congèle à $-1^{\circ}84$. On trouve en effet $-0^{\circ}76$. L'écart est de $0^{\circ}06$ et nous pensions qu'il pouvait s'expliquer par la

différence de taille des animaux, ceux-ci ne pesant guère plus de 100 grammes chacun alors que les Anguilles utilisées à Paris atteignaient souvent 800 grammes.

Un deuxième lot d'Anguilles fut capturé quelques jours après le premier et au même endroit du bassin d'Arcachon, puis conservé quelque temps dans la même eau de mer. Le sérum provenant du mélange du sang de trois individus avait un point cryoscopique inattendu de $-0^{\circ}69$.

Peu après, nous avons dû quitter Arcachon, mais au cours de deux séjours au Musée Océanographique de Monaco, nous avons pu reprendre cette étude sur de grosses Anguilles conservées depuis plus ou moins longtemps dans les aquariums à eau de mer courante de cet établissement. Le tableau ci-dessous indique les résultats obtenus. Nous y avons joint ceux qui provenaient des Anguilles d'Arcachon.

N ^o	POINT DE CONGÉLATION de l'eau de mer	POINT DE CONGÉLATION du sérum	TENEUR DU SÉRUM en NaCl en grammes par litre	LIEU D'OBSERVATION
1	$-1^{\circ}84$	$-0^{\circ}82$	»	Arcachon
2	$-1^{\circ}84$	$-0^{\circ}69$	»	id.
3	$-2^{\circ}12$	$-0^{\circ}73$	»	Monaco
4	$-2^{\circ}12$	$-0^{\circ}65$	»	id.
5	$-2^{\circ}15$	$-0^{\circ}69$	8,5	id.
6	$-2^{\circ}15$	$-0^{\circ}69$	8,35	id.
7	$-2^{\circ}15$	$-0^{\circ}69$	8,28	id.

Si l'on excepte les Anguilles 1, on voit que le point de congélation du sérum de ces Anguilles ayant vécu longtemps dans l'eau de mer est en moyenne de $-0^{\circ}69$. Ce Δ est bien différent de celui que faisaient prévoir les expériences précédentes ($-0^{\circ}78$). Il semble donc qu'à la suite d'un long séjour dans l'eau de mer le poisson tende à ramener la concentration de son milieu intérieur vers la valeur qu'elle possède quand il vit dans l'eau douce. Les Anguilles que nous avons utilisées à Monaco provenaient de Martigues (Bouches-du-Rhône), où elles avaient été, paraît-il, pêchées en eau douce. Pour les poissons 3 et 4, il s'est écoulé cinq mois entre le moment où ils sont arrivés à l'aquarium de Monaco et celui où nous les avons sacrifiés. Nous ignorons le temps de séjour exact des Anguilles 5, 6 et 7 dans l'eau de mer, mais nous savons qu'il n'a pas été inférieur à un mois. Quant aux petites Anguilles d'Arcachon, il nous est naturellement impossible de savoir si elles avaient toujours vécu dans l'eau de mer du Bassin ou si, au contraire, elles venaient des nombreux cours d'eau qui s'y jettent.

Quelque temps après nos premières recherches sur ce sujet, M^{lle} GUEYLARD, au cours de son étude sur le rôle de la rate dans les phénomènes d'adaptation aux changements de salinité (1), fut amenée incidemment à mesurer le point cryoscopique du sérum d'Anguilles conservées depuis 10 mois dans l'eau de mer de Monaco, et provenant, comme les nôtres, de Martigues. Elle trouva comme température de congélation $-0^{\circ}64$, résultat en bon accord avec nos déterminations.

Cet ensemble de mesures cryoscopiques tend à montrer que la concentration du sang des Anguilles qui ont vécu longtemps dans l'eau de mer (plusieurs mois) est à peu près la même que celle des Anguilles pêchées en eau douce, ou à peine supérieure. Elle est très infé-

(1) *C. R. Ac. Sc.*, 1924, 179.

rieure à celle que l'on observe à la suite d'un séjour de quelques heures dans l'eau salée, bien qu'au bout de ce temps l'animal paraisse être en équilibre d'échange avec le liquide qui l'entoure.

Quelle est la raison de cette différence?

La supposition la plus simple est que l'Anguille, dont la pression osmotique du sang augmente à la suite de son transport dans l'eau de mer, tend à ramener cette pression osmotique à sa valeur primitive, mais que cette réaction nécessite un temps très long, plusieurs mois. A l'appui de cette hypothèse, on peut invoquer un fait identique, mais observé d'une façon certaine, concernant l'Épinoche. Nous avons vu au chapitre I que M^{lle} GUEYLARD avait découvert que ce poisson, transporté dans l'eau salée, diminue d'abord rapidement de poids mais qu'ensuite il regagne en quelques heures son poids initial et même souvent le dépasse. On peut penser qu'un processus analogue se produit chez l'Anguille, mais que le retour à la concentration initiale s'effectue beaucoup plus lentement que chez l'Épinoche. M^{lle} GUEYLARD (1) ayant été amenée à laisser une Anguille (achetée aux halles de Paris) pendant un mois dans l'eau de mer, vit qu'au bout de ce temps, le point de congélation du sérum ne s'était pas relevé, mais même était un peu plus bas que celui que l'on peut déduire de la courbe de la page 68. Ainsi au bout de ce temps la tendance à rétablir la pression osmotique à sa valeur primitive ne s'était pas encore manifestée.

Un autre phénomène tend à montrer que l'Anguille, à la suite d'un long séjour dans l'eau de mer, éprouve des modifications qui ne se produisent pas quand la vie en eau salée n'est pas suffisamment prolongée. M^{lle} GUEYLARD ayant déterminé le rapport du poids de la rate à celui du corps tout entier, constata que sa valeur était environ quatre fois plus faible pour les Téléostéens marins que pour ceux qui habitent l'eau douce. Il était intéressant de rechercher si la valeur de ce rapport était la même pour l'Anguille d'eau douce et pour celle ayant vécu dans l'eau de mer. M^{lle} GUEYLARD constata que les Anguilles qui n'ont jamais quitté l'eau douce ou celles qui n'ont séjourné qu'un mois ou moins dans l'eau salée fournissent une valeur identique à celle que l'on détermine chez les autres Téléostéens d'eau douce. Par contre, les Anguilles conservées dix mois dans les aquariums à eau de mer de Monaco avaient une rate moins développée et le rapport de son poids à celui du corps tout entier avait la même valeur que celle qui caractérise les Téléostéens marins (Congre, Murène, etc.) C'est donc là encore l'exemple d'une modification qui nécessite un long séjour de l'Anguille dans l'eau de mer pour se produire.

Il nous a paru intéressant de chercher comment le transfert en eau douce d'une des Anguilles ayant vécu cinq mois dans l'eau de mer modifierait la concentration du sang du poisson. On peut se demander si l'animal qui a réussi à rétablir la concentration primitive de son milieu intérieur n'est plus maintenant sans relation osmotique avec le milieu ambiant, comme les autres Téléostéens marins, ou si, au contraire, sous l'influence de l'hypotonie du liquide extérieur, la pression osmotique de son sang ne va pas diminuer et devenir ainsi plus faible que celle de l'Anguille qui n'a jamais quitté l'eau douce.

Une Anguille faisant partie du même lot que celles classées sous les numéros 3 et 4 du tableau de la page 70 et qui a séjourné cinq mois dans l'eau de mer est alors placée dans un aquarium à eau douce. Au bout de huit jours, on la sacrifie. Son sérum se congèle à — 0°67. Comme celui des Anguilles 3 et 4 avait comme point cryoscopique, l'un — 0°73 et l'autre — 0°65, on voit que le séjour en eau douce de notre poisson n'a pas modifié sensiblement la concentration moléculaire de son milieu intérieur. Cette concentration paraît désormais fixe

(1) *De l'adaptation aux changements de salinité*, p. 110.

et indépendante de la salinité du liquide qui entoure l'animal. Celui-ci se comporte, à ce point de vue, comme un Téléostéen marin.

Signalons encore une dernière expérience qui confirme ce fait. Une Anguille appartenant toujours au même lot et qui, par suite, venait de séjourner cinq mois dans l'eau de mer, fut placée pendant dix jours dans l'eau douce et remise ensuite dans l'eau de mer. Seize jours après, on la sacrifie. Son sérum se congelait à $-0^{\circ}64$. Nous avons vu, au contraire, que le passage de l'eau douce dans l'eau de mer des Anguilles qui n'ont pas vécu auparavant dans l'eau de mer avait pour effet d'abaisser le point cryoscopique du sang à $-0^{\circ}78$. Ici on n'observe rien de semblable. Les diverses modifications de la salinité du milieu extérieur ne paraissent pas avoir eu d'influence sur la pression osmotique du sang.

Revenons maintenant au tableau de la page 70. Nous voyons qu'en moyenne le Δ du sang des Anguilles ayant vécu longtemps dans l'eau de mer est de $-0^{\circ}69$ (nous exceptons l'Anguille 1). Pour quelques-unes d'entre elles nous avons dosé le chlorure de sodium du sérum. On peut remarquer que si la pression osmotique du milieu intérieur de ces poissons est légèrement plus forte que celle que l'on mesure chez les Anguilles d'eau douce (1), il en est de même pour la teneur en Na Cl qui peut s'élever jusqu'à 8,5 g. par litre. Ceci nous amène à penser que la part qui revient à cette substance dans l'établissement de la pression osmotique n'a pas été modifiée par le long séjour des poissons dans l'eau de mer. Voyons s'il en est bien ainsi en calculant le rapport de la pression osmotique produite par le Na Cl à la pression osmotique totale du sérum.

N ^o	Δ DU SÉRUM	NaCl DU SÉRUM (en g. par litre)	Δ Dû AU NaCl	Pression osmotique due au NaCl
				Pression osmotique totale
5	$-0^{\circ}69$	8,5	$-0^{\circ}535$	0,77
6	$-0^{\circ}69$	8,35	$-0^{\circ}52$	0,75
7	$-0^{\circ}69$	8,28	$-0^{\circ}515$	0,74

Si nous nous rappelons que pour les deux Anguilles sortant de l'eau douce examinées à ce point de vue nous avons trouvé comme valeur du rapport envisagé 0,72 et 0,74, on voit que ce rapport n'a été qu'à peine modifié par un long séjour du poisson dans l'eau de mer. Ce résultat était d'ailleurs à prévoir puisqu'à la suite de ce séjour l'Anguille se comporte comme un Téléostéen marin et que, pour ceux-ci, le rapport en question a la même valeur que pour les Téléostéens d'eau douce.

V. — Rôle du mucus dans les échanges entre les milieux intérieur et extérieur de l'Anguille

PAUL BERT, avons nous déjà dit, découvrit que les Anguilles ne supportent plus le passage brusque de l'eau douce dans l'eau de mer quand on les a privées de la couche de mucus qui entoure leur corps à l'état normal. En étudiant l'action de l'eau de mer sur les Anguilles (2), il remarqua que certaines de celles-ci mouraient pendant que d'autres résistaient. Il s'aperçut que toutes celles qu'il mettait dans l'eau de mer survivaient, pendant que toutes celles que

(1) Nous n'avons jamais trouvé d'Anguilles d'eau douce dont le point de congélation du sérum fût inférieur à $-0^{\circ}66$ et la teneur en Na Cl supérieure à 7,9 g. par litre. Voir tableau de la page 65.

(2) D'après P. REGNARD, qui était alors préparateur de P. BERT. *La vie dans les eaux*, p. 438.

prenait le garçon de laboratoire mouraient. La cause en était dans un détail opératoire : P. BERT saisissait les Anguilles avec une épuisette et les déposait dans le bac d'eau salée. Le garçon essayait de les prendre à la main, puis pour mieux les tenir, il les mettait dans un torchon, luttait avec elles, essuyait ainsi tout le mucus qui recouvre leur corps et les désarmait vis-à-vis de l'action osmotique du sel.

Nous avons cru intéressant de vérifier que la cause de la mort par l'eau de mer des Anguilles privées de mucus était bien d'origine osmotique. S'il en est ainsi, le milieu intérieur de ces poissons doit éprouver des variations de concentration beaucoup plus considérables que celui des mêmes animaux ayant conservé leur couche de mucus et plongés dans la même solution. C'est ce qu'il est facile de constater. Voici la technique des expériences que nous avons réalisées :

Les Anguilles, appartenant toutes au même lot, sont soigneusement essuyées avec un torchon, puis placées soit dans dix litres d'eau ordinaire, soit dans le même volume d'eau additionnée de quantités variables de sel marin. Les poissons restent trois ou quatre heures dans la solution, mais tous les trois quarts d'heure on les en retire, on les essuie de nouveau avec soin avec un torchon sec, puis on les place dans le liquide.

La durée du séjour a été plus faible dans ces expériences que dans celles où l'on laissait intacte la couche de mucus, mais trois heures sont certainement encore suffisantes pour que l'équilibre d'échange soit atteint entre les deux milieux de l'animal. Nous avons vu en effet que ce résultat était atteint en une heure et demie. Remarquons d'ailleurs que ces expériences n'ont pas besoin d'être aussi précises que celles réalisées dans le but de tracer la courbe représentant la pression osmotique du sang en fonction de celle du liquide ambiant. Nous voulons simplement montrer que la concentration du sérum se modifie davantage lorsque l'on supprime le mucus qui recouvre le corps. Dans le tableau suivant nous indiquons les résultats de nos expériences. La troisième colonne contient les points de congélation du sérum de l'animal qui n'aurait pas été privé de mucus. Ils sont déduits de la courbe de la page 68.

Enfin dans la dernière colonne, se trouvent consignées les différences entre les points de congélation du sang de l'Anguille privée de mucus et de celui de l'animal l'ayant conservé.

POINT DE CONGÉLATION de la solution	POINT DE CONGÉLATION du sérum de l'Anguille privée de mucus	POINT DE CONGÉLATION du sérum de l'Anguille ayant gardé son mucus	DIFFÉRENCE ENTRE LES POINTS de congélation du sérum
— 0°02	— 0°58	— 0°62	— 0°04
— 0°31	— 0°62	— 0°65	— 0°03
— 0°56	— 0°73	— 0°67	+ 0°06
— 0°68	— 0°76	— 0°68	+ 0°08
— 0°83	— 0°79	— 0°69	+ 0°10
— 1°08	— 0°98	— 0°70	+ 0°28
— 1°13	— 0°93	— 0°71	+ 0°22
— 1°16	— 0°94	— 0°71	+ 0°23
— 1°57	— 1°21	— 0°74	+ 0°47
— 2°10	— 1°10	— 0°79	+ 0°31
— 2°13	— 1°15	— 0°79	+ 0°36

On voit que la privation du mucus des téguments détruit une des barrières les plus efficaces qui s'opposent aux échanges entre le milieu externe et le milieu interne. Par exemple

le point de congélation du sang de l'Anguille normale que l'on transporte dans l'eau de mer de $\Delta = -2^{\circ}10$ devient $-0^{\circ}79$. Si l'on a essuyé le mucus qui recouvre la peau, ce point cryoscopique s'abaisse à $-1^{\circ}10$. Il est inférieur de $0^{\circ}31$ au précédent. On comprend bien que cette trop grande pression osmotique du sang produise la mort de l'animal, comme PAUL BERT l'a observée.

Dans l'eau douce la pression osmotique du milieu intérieur paraît légèrement inférieure à celle de l'Anguille normale, mais ce fait demande à être confirmé car nous avons trouvé une Anguille normale dont le sérum se congelait à $-0^{\circ}57$.

D'une manière générale, la concentration du sang de l'animal privé de mucus est toujours supérieure à celle de l'Anguille ayant conservé cette couche protectrice et placée dans les mêmes conditions. L'excès de concentration est d'autant plus grand que la salinité du liquide ambiant est plus élevée. Les quelques irrégularités dans la série des chiffres obtenus tiennent sans doute, soit à des différences individuelles, soit plus probablement à ce que le mucus des diverses anguilles est enlevé par l'essuyage d'une manière inégale.

En résumé : le mucus abondamment sécrété à la surface de la peau de l'Anguille joue un rôle très efficace dans l'isolement du milieu interne. La suppression, même incomplète de ce mécanisme de protection de l'épithélium des téguments amène dans les échanges des modifications qui expliquent bien les résultats signalés autrefois par P. BERT.

CHAPITRE VI

Étude du Sélacien

I. — Généralités

Contrairement aux Téléostéens qui ont pour habitat l'eau douce et l'eau de mer, les Sélaciens sont presque tous exclusivement marins. Seuls quelques Plagiostômes se rencontrent dans les rivières mais ils sont peu nombreux. L'immense majorité des Poissons cartilagineux vit dans l'eau de mer. C'est de ceux-ci qu'il sera uniquement question dans ce chapitre.

Les recherches que nous avons entreprises sur ces poissons ont été réalisées au Musée Océanographique de Monaco et aux Laboratoires de la Société Scientifique d'Arcachon.

II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du sang des Sélaciens

Le milieu intérieur des poissons cartilagineux a été l'objet d'un plus grand nombre d'études que celui des Téléostéens. Nous allons les résumer brièvement.

Le premier physiologiste qui détermina la pression osmotique du sang des Sélaciens fut BOTTAZZI. Il mesura le point de congélation du sang de quelques Sélaciens de Naples. Voici ses résultats :

<i>Torpedo marmorata</i>	— 2°29
<i>Mustellus vulgaris</i>	— 2°36
<i>Trygon violacea</i>	— 2°43

L'eau de mer de Naples se congelait, à l'époque de ses recherches, à — 2°29. Aussi BOTTAZZI qui, comme on l'a déjà vu à propos des Téléostéens, voulait trouver une relation simple entre la pression osmotique du sang des animaux marins et celle de l'eau de mer, conclut que, chez le Sélacien, la pression osmotique du sang est égale à celle de l'eau de mer. Cette relation n'est qu'assez approximative puisque le sang de *Mustellus* et de *Trygon* se congèle à une température sensiblement inférieure à celle de l'eau de mer.

Antérieurement au travail de BOTTAZZI, L. FRÉDÉRICQ avait déterminé la quantité totale de sels minéraux contenus dans le sang des Plagiostômes et il l'avait trouvée notablement inférieure à celle de l'eau de mer (de la moitié environ). A première vue, il semble exister une contradiction entre les déterminations de L. FRÉDÉRICQ et de BOTTAZZI et ce dernier en avait été le premier étonné. De son côté, L. FRÉDÉRICQ écrivait en 1899 dans sa « Note sur le sang de l'Écrevisse » : « Il y a désaccord entre BOTTAZZI et moi au sujet des Plagiostômes. » C'est RODIER qui donna l'explication de ce désaccord apparent : STÆDELER et FRERICHs puis SCHRODER montrèrent que le sang et les tissus des Sélaciens contiennent une forte proportion d'urée. C'est cette urée qui intervient par sa concentration moléculaire pour égaliser la pression osmotique du sang avec celle de l'eau de mer, les matières minérales du sang étant en quantité insuffisante pour obtenir ce résultat à elles seules. Nous reviendrons plus longuement sur le rôle de cet urée.

Non seulement RODIER mit d'accord BOTTAZZI et FRÉDÉRICQ, mais il fit lui-même des mesures du point de congélation du milieu intérieur de différents Sélaciens et confirma les conclusions de BOTTAZZI sur l'isotonie de ce milieu avec l'eau de mer. En outre, il remarqua le premier que très souvent le Δ du sérum du Sélacien est inférieur de quelques centièmes de degré à celui de l'eau de mer qui entoure le poisson. Nous avons vu que les chiffres que donne BOTTAZZI prêtent à la même remarque mais, comme le signale RODIER, le physiologiste italien ne paraît pas y avoir attaché d'importance.

RODIER a donc constaté le premier que le sérum des Sélaciens est souvent hypertonique par rapport à l'eau de mer. Il dosa en même temps le chlorure de sodium du sang de plusieurs espèces (*Trygon vulgaris*, *Scyllium canicula*, *Scyllium catulus*, *Centrina*, *Galeus canis*, *Raia undulata*) et en trouve de 19,5 à 17 g. par litre. Chez la Torpille cette teneur est plus élevée. Elle atteint jusqu'à 22,6 g. Il constata en outre que le sérum des Sélaciens n'est pas, au point de vue minéral, de l'eau de mer diluée, car ayant dosé simultanément le chlore et le magnésium dans l'eau de mer et dans le sérum, il vit que le rapport du chlore au magnésium qui est voisin de 20 pour l'eau de mer, s'élève à 30 pour le sérum de la Roussette.

Une autre acquisition nouvelle résulte du travail de RODIER. En effet, le sang des Sélaciens examiné par BOTTAZZI était à peu près isotonique avec l'eau de mer de Naples de $\Delta = -2^{\circ}29$. Au contraire, ceux de RODIER provenaient du bassin d'Arcachon et le Δ était de $-1^{\circ}80$ environ. Malgré cette différence de salinité le milieu intérieur de ces poissons a encore sensiblement la même pression osmotique que le liquide qui l'entourne.

Nous avons vu que la concentration du sang des Téléostéens marins était indépendante de la salinité extérieure. RODIER a pressenti que le point cryoscopique du milieu intérieur du Sélacien dépendait de celui de l'eau de mer dans laquelle il vit.

Les expérimentateurs qui suivent n'ont pas ajouté beaucoup de faits nouveaux relativement à la physiologie du milieu intérieur du poisson cartilagineux.

GARREY, en Amérique, mesure le point cryoscopique du sang de deux Sélaciens :

Mustellus canis, Δ de $-1^{\circ}90$ à $-1^{\circ}86$.

Requin des sables, Δ de $-2^{\circ}03$ à $-1^{\circ}88$.

L'eau de mer de la station biologique où il travaillait se congelait en moyenne à $-1^{\circ}82$.

L. FRÉDÉRICQ, en 1901, reprend ses travaux antérieurs sur les animaux marins mais en utilisant cette fois le cryoscope. Les Sélaciens sont l'objet d'une recherche assez étendue et il détermine simultanément le Δ du sérum, sa teneur en urée et sa teneur en matières salines. Il note en même temps le point de congélation de l'eau de mer.

Scyllium catulus Δ sang = $-2^{\circ}18$; Δ eau de mer $-2^{\circ}13$.

Scyllium catulus Δ sang = $-2^{\circ}14$; Δ eau de mer $-2^{\circ}12$.

Le sérum de ce dernier animal contenait 1,72 % de sels, dont 1,62 de solubles et 0,1 insolubles et 2,93 % d'urée. Cette dose d'urée représente un abaissement du point de congélation de $0^{\circ}92$ environ.

Les sels provenant de la calcination de 10 cm³ de sérum sont redissouts dans 10 cm³ d'eau distillée. Le Δ de cette solution est $-1^{\circ}02$. Nous reviendrons dans la suite sur ces nombres.

Enfin QUINTON fut amené, au cours de ses dosages de chlorure de sodium dans le sang des différents représentants de la série animale, à s'occuper des Sélaciens. Les chiffres qu'il indique confirment exactement ceux de RODIER. Comme lui, il trouve le sang de Torpille plus riche en chlore que celui des autres Sélaciens.

Cet historique montre qu'au point de vue du milieu intérieur, les Sélaciens ont été mieux étudiés que les Téléostéens. Il est remarquable que l'hypertonie du sang des poissons

cartilagineux qui résulte des chiffres mêmes publiés par les différents physiologistes n'ait pas attiré l'attention de ces derniers. RODIER excepté, tous concluent que l'eau de mer et le sérum du Sélacien sont isotoniques.

Dans les recherches personnelles que nous allons maintenant relater, nous avons surtout en vue de voir si cette hypertonicité était fortuite ou bien, si, au contraire, on pouvait en faire une règle générale pour le poisson cartilagineux. Enfin nous avons cherché à préciser le rôle qui revient au chlorure de sodium dans l'établissement de la pression osmotique du sang. Comme animaux d'expérience, nous avons choisi la Raie (*Raia undulata*) et la Roussette (*Scyllium catulus* et *Scyllium canicula*).

Les animaux étaient pêchés au filet, soit au large de Monaco, soit dans le bassin d'Arcachon. Avant d'être saignés, ils étaient conservés plusieurs jours dans un aquarium à eau de mer non renouvelée. De la sorte, leur milieu intérieur avait le temps de se mettre en équilibre osmotique avec le liquide extérieur. En prenant au contraire un échantillon de l'eau de mer à l'endroit où l'animal était capturé, on risquait de prélever un liquide dans lequel le poisson n'avait fait que passer, alors qu'il avait pu séjourner auparavant dans une eau de mer plus salée ou, au contraire, un peu diluée. Cela est d'autant plus à craindre à Arcachon que la salinité de l'eau du bassin est très variable d'un endroit à un autre et même en un même point, suivant l'état de la marée. Comme l'établissement de l'équilibre osmotique entre le milieu vital et le milieu extérieur n'est pas instantané, on peut craindre que le liquide prélevé sur le lieu de pêche ne soit pas celui avec lequel le sang du poisson est en équilibre. Comme justement nous voulons savoir si le sang du Sélacien est hypertonique ou isotonique vis-à-vis de l'eau de mer avec laquelle il est en équilibre osmotique, il importe d'être certain que cette condition est bien réalisée. C'est cette certitude que procure le séjour du poisson dans la même eau de mer pendant quelque temps.

Voici maintenant les résultats obtenus :

N°	ESPÈCES	Δ EAU DE MER	Δ SÉRUM du Sélacien	DIFFÉRENCE entre Δ eau de mer et Δ du sérum	NaCl DU SÉRUM	LIEU D'OBSERVATION
1	Roussette	— 2°08	— 2°17	— 0°09	15,7	Monaco
2		— 2°08	— 2°20	— 1°12	»	id.
3		— 2°15	— 2°23	— 0°08	14,7	id.
4		— 2°15	— 2°20	— 0°05	16,1	id.
5		— 2°15	— 2°25	— 1°10	17,0	id.
6	Raie	— 1°89	— 1°95	— 0°06	»	Arcachon
7		— 1°84	— 1°89	— 0°04	»	id.
8		— 1°88	— 1°96	— 0°08	»	id.

Il ressort de ces documents que la pression osmotique du sang des Sélaciens examinés est *toujours supérieure* à celle de l'eau de mer avec laquelle le poisson est en équilibre d'échanges osmotiques. Cet excès de concentration moléculaire se traduit par une différence entre les points de congélation des deux milieux de 0°05 à 0°12, en moyenne 0°08, bien supérieure aux écarts expérimentaux. Jamais nous n'avons trouvé l'isotonie. Certes, comparée à la pression osmotique de l'eau de mer, cette petite différence est faible et c'est pour cela que BOTTAZZI, GARREY et FRÉDÉRICQ ne l'ont pas remarquée.

La suite de cet ouvrage montrera que, de tous les animaux marins, les Sélaciens sont les seuls à posséder une pression osmotique sanguine supérieure à celle de l'eau de mer. Le milieu intérieur des autres animaux marins est, soit hypotonique avec l'eau de mer (poissons osseux), soit isotonique (Invertébrés).

Si maintenant nous comparons le Δ du sang des cinq premières Roussettes de Monaco, avec celui du même animal pêché à Arcachon (n° 6), nous voyons que ces Δ sont différents et que chacun d'eux est voisin de celui de l'eau de mer dans laquelle vivait le poisson. Ceci prouve que la pression osmotique du milieu intérieur des Sélaciens n'est pas une constante comme elle l'est pour les Téléostéens marins. Elle dépend au contraire de la salinité de l'eau de mer qui baigne l'animal. Dans un prochain paragraphe nous reviendrons sur ce sujet.

Déterminons à présent le rôle qui revient au chlorure de sodium dans la réalisation de cette pression osmotique et, pour cela, calculons, comme pour les Téléostéens le rapport $\frac{\text{Pression osmotique due au NaCl}}{\text{Pression osmotique totale}}$ pour les Sélaciens dont nous avons mesuré simultanément le Δ et le NaCl du sérum. (Roussettes 1, 3, 4, 5.)

N°	Δ DU SÉRUM	NaCl DU SÉRUM	Δ ATTRIBUABLE AU NaCl	RAPPORT
1	— 2°17	15,7	— 0°97	0,45
3	— 2°23	14,7	— 0°91	0,41
4	— 2°20	16,1	— 1°00	0,45
5	— 2°25	17,0	— 1°06	0,47

La valeur moyenne du rapport de la dernière colonne est 0,44. Par suite, moins de la moitié de la tension osmotique du sang des Sélaciens est imputable au chlorure de sodium. Le reste provient en très grande partie de l'urée. Ce rapport oscille dans des limites relativement larges puisqu'il varie de 0,41 à 0,47. Chez les Téléostéens, ce rapport est d'environ 0,75. Il présente des variations individuelles moins notables.

III. — Pression osmotique physicochimique et pression osmotique physiologique du sérum des Sélaciens

Nous venons de mesurer la pression osmotique du sang des Sélaciens en utilisant le cryoscope. Nous savons en outre que la moitié seulement de cette pression est produite par des sels minéraux, le reste ayant pour cause l'urée qui se trouve en abondance dans ce sérum.

Il faut maintenant interpréter ces résultats au point de vue physiologique.

Quand nous prenons comme mesure de la pression osmotique l'abaissement du point de congélation, nous déterminons la pression osmotique que présenterait la solution vis-à-vis du solvant pur, c'est-à-dire de l'eau distillée dont elle serait séparée par une membrane perméable à l'eau, mais ne se laissant traverser par *aucun* des corps dissouts, organiques ou minéraux, qui provoquent par leur concentration moléculaire cette pression osmotique.

En réalité c'est cette concentration moléculaire que mesure l'abaissement du point de congélation. Comme la pression osmotique, telle que nous venons de la définir, est proportionnelle à cette concentration, il en résulte qu'elle est également proportionnelle au point

cryoscopique (1). Par conséquent, la pression osmotique mesurée par le cryoscope suppose une membrane semi-perméable. Si, au lieu d'opposer la solution (I) à de l'eau pure, nous plaçons dans le second compartiment de l'osmomètre une autre solution, par exemple plus diluée (II), la solution (I) présentera vis-à-vis de (II) une pression osmotique relative qui sera la différence des pressions osmotiques de chacun des liquides par rapport à l'eau pure et on aura :

Pression osmotique de (I) par rapport à (II) = Pression osmotique de (I) vis-à-vis eau distillée — Pression osmotique de (II) vis-à-vis eau distillée.

C'est cette pression qui déterminera un transport d'eau de (II) vers (I) à travers la paroi semi-perméable.

Cette pression relative s'exprimera par la différence des points de congélation des deux solutions.

Supposons maintenant que la condition de semi-perméabilité de la membrane de notre osmomètre ne soit plus réalisée et que cette dernière se laisse traverser par un des corps dissouts de la solution. Comment les phénomènes précédents vont-ils être modifiés?

Supposons que le liquide (I) soit une solution de deux corps A et B dans l'eau distillée. La membrane est imperméable pour A mais elle laisse diffuser B librement. Quelle va être la pression osmotique de (I) vis-à-vis de l'eau distillée?

D'après les lois de la diffusion, B va se répandre dans le liquide extérieur de l'osmomètre (eau distillée) de manière que sa concentration soit la même de part et d'autre de la membrane. Quand cette égalité sera réalisée, tout se passera, au point de vue de la pression osmotique de (I) comme si B n'existait pas, puisque sa concentration est égale de chaque côté de la membrane. La pression osmotique de (I) se réduit à celle qui est produite par la concentration du corps A. D'une façon générale, seuls sont actifs au point de vue osmotique les corps dissouts que la membrane ne laisse pas passer. Si, avant d'introduire le liquide (I) dans l'osmomètre nous déterminons son point cryoscopique, nous lui trouverons une certaine valeur qui représentera la concentration moléculaire de A + B. Cette concentration, et par suite le Δ , serait une mesure de la pression osmotique dans le cas où ni A ni B ne pourrait traverser le septum. Comme dans le cas actuel, ce septum est perméable à B, la pression osmotique véritable n'est due qu'au corps A, le cryoscope nous conduit à une valeur de la pression osmotique trop forte, résultant à la fois de A et B, alors que, en réalité, la concentration seule de A produit cette pression. C'est cette pression véritable due uniquement à A qui produit un mouvement d'eau vers (I).

De même, si au lieu d'opposer cette solution (I) à l'eau pure, nous mettons, de l'autre côté de la membrane, une autre solution (II) quelconque, les corps dissouts de (I) et (II) qui traversent la membrane vont se partager à concentration égale dans les deux milieux et n'auront aucune influence osmotique. La pression osmotique de (I) par rapport à (II) sera égale à la différence des pressions osmotiques vraies de chacun des liquides par rapport à l'eau distillée. C'est cette pression relative qui déterminera le mouvement de l'eau d'un liquide vers l'autre. La différence des points de congélation de (I) et de (II) n'est pas une mesure de cette pression relative.

La mesure cryoscopique de la tension osmotique ne concorde avec la mesure effectuée à l'osmomètre que dans le cas où la membrane de l'appareil est rigoureusement semi-perméable. Deux solutions peuvent être isotoniques au cryoscope et cependant un mouvement d'eau peut se produire de l'une vers l'autre quand on les sépare par une membrane. Il suffit que cette membrane soit perméable à un des corps dissouts de l'une des solutions. Nous verrons plus loin un exemple remarquable de ce fait. Il résulte de cet exposé que la tonicité relative

(1) Au moins tant que la solution est peu concentrée, ce qui est en général le cas des liquides biologiques.

de deux solutions dépend essentiellement de la perméabilité du septum qui les sépare et que, sauf dans le cas de la semi-perméabilité, le cryoscope est incapable de nous renseigner sur cette tonicité. Revenons maintenant à la physiologie.

Les différents liquides d'un organisme (sang, liquides intra et extra cellulaires, etc...) sont séparés par des tissus qui constituent des membranes à travers lesquelles se font les échanges gazeux, liquides et solides nécessaires à l'entretien de la vie. A un moment on a prétendu que ces membranes étaient semi-perméables. C'est là une absurdité car « le simple bon sens suffit à établir que la paroi protoplasmique des cellules vivantes ne peut être rigoureusement semi-perméable que vis-à-vis d'un petit nombre de solutions, car si elle l'était pour toutes, rien, sauf de l'eau pure ne pourrait pénétrer dans la cellule, rien non plus ne pourrait en sortir que par la mort et la destruction de la cellule elle-même. Le seul fait que toute cellule vivante puise dans le milieu où elle vit certaines substances (aliments) et en rejette d'autres (excrétions), démontre que la paroi cellulaire n'est pas semi-perméable par rapport à tous les corps que le milieu contient ni par rapport à ceux qui prennent naissance à l'intérieur de la cellule elle-même. Cette notion pourtant très simple, semble avoir été méconnue par quelques-uns des biologistes qui ont tenté d'appliquer les lois osmotiques aux êtres vivants (1).

C'est maintenant une notion classique que certaines substances traversent librement les membranes animales et végétales. GRYNs et HEDIN ont montré en particulier que le globule rouge est parfaitement perméable à l'urée (2). Aussi cette substance, d'après ce que nous avons exposé précédemment, n'intervient-elle pas dans l'établissement de la pression osmotique d'une solution vis-à-vis de globules rouges qu'elle tient en suspension. Par exemple, si une telle solution contient $8^{\circ}/_{\infty}$ de NaCl et $10^{\circ}/_{\infty}$ d'urée, la pression osmotique qui se manifeste vis-à-vis des globules sanguins est seulement celle qui est due à la concentration des $8^{\circ}/_{\infty}$ du NaCl. La détermination du point de congélation conduirait à une valeur de la pression osmotique bien supérieure à celle qui se manifeste vis-à-vis des globules qui se laissent pénétrer par l'urée. Comme cette pression réelle de la solution vis-à-vis des globules est celle qui intéresse le physiologiste, celle qui règle en particulier l'imbibition de ces globules, nous appellerons cette pression osmotique « physiologique », par opposition à la pression osmotique physico-chimique déterminée par le cryoscope et qui suppose une semi-perméabilité absolue des tissus animaux pour les solutions qu'ils séparent.

Nous avons un moyen de mesurer la pression osmotique physiologique d'une solution par rapport à des globules rouges. C'est de comparer le volume occupé par un certain nombre de globules dans la solution qui nous intéresse avec celui qui est occupé par un même nombre des mêmes globules dans des solutions de pression osmotique physiologique connue, en général des solutions de NaCl à titres variables. Par définition, on dit que deux solutions ont même pression osmotique physiologique par rapport aux globules quand ceux-ci occupent le même volume dans chacune d'elles.

Appliquons ces notions au sang des Sélaciens. Nous avons vu que ce sang était très riche en urée (jusqu'à $30^{\circ}/_{\infty}$) et que son point de congélation était légèrement inférieur à celui de l'eau de mer, ce qui indique une pression osmotique physico-chimique considérable, supérieure

(1) RODIER.

(2) D'autres substances (alcool, glycérine, etc.) jouissent de cette propriété. Nous avons établi dernièrement que les urées substituées ou sulfurées se comportaient comme l'urée ordinaire.

à celle du sang de tous les autres animaux. Nous nous sommes demandé si cette pression osmotique était vraiment la pression osmotique physiologique, ce dont il faut douter *a priori* quand on connaît la grande teneur en urée du sang.

Nous avons résolu cette question en utilisant la méthode du sérum globulaire, que nous avons décrite au début de cet ouvrage et qui permet de comparer le volume de globules rouges placés dans diverses solutions. Voici quelques expériences :

Une Raie pêchée au filet dans le bassin d'Arcachon est saignée par incision du cœur. On obtient une douzaine de cm³ de sang dont une partie est filtrée après défibrination. Le reste est centrifuge pour séparer le sérum. On détermine son point de congélation et on trouve Δ sérum = — 1°89. Dans un tube hématocrite de HAMBURGER (1), on place 1,5 cm³ de sérum de cette Raie et 0,08 cm³ de sang. Dans un autre tube identique, on introduit 1,5 cm³ d'eau de mer de Δ = — 1°84 et la même quantité de sang.

La pression osmotique physique est très sensiblement la même dans les deux tubes (— 1°89 et — 1°84). Si la pression osmotique physiologique est aussi la même, on doit obtenir des volumes globulaires identiques. Or on trouve :

Volume globulaire dans le sérum : 52. Volume globulaire dans l'eau de mer : 38.

Ainsi il y a une énorme différence entre les volumes globulaires et, par suite, entre la pression osmotique physiologique des deux solutions vis-à-vis des globules rouges des Sélaciens. Le sérum de celui-ci est très hypotonique par rapport à l'eau de mer, vis-à-vis des globules. Au contraire le cryoscope nous amenait à une conclusion exactement opposée. Ceci conduit à penser que l'urée du sérum ne joue aucun rôle osmotique vis-à-vis des globules.

Pour vérifier cette hypothèse, il faut éliminer l'urée du sérum. Pour cela nous avons pris 2 cm³ de sérum que nous avons calcinés très doucement afin de ne pas volatiliser de manières minérales. Nous avons repris les cendres par 2 cm³ d'eau distillée. Ainsi nous obtenons une solution qui contient sensiblement les sels minéraux du sérum à la même concentration que dans le sérum lui-même et il n'y a plus d'urée.

Déterminons le volume globulaire dans cette solution. On trouve :

Volume des globules dans solution des cendres du sérum = 56.

Il est donc très voisin de celui obtenu dans le sérum lui-même : 52.

Le point de congélation de cette solution des cendres du sérum est — 1°06 bien différent de celui du sérum lui-même — 1°89. Cette grande diminution de la pression osmotique physique n'a entraîné qu'une très faible augmentation du volume globulaire, c'est-à-dire une très petite diminution de la pression physiologique. Par conséquent la calcination a détruit des matières organiques qui n'intervenaient pas ou très peu dans l'établissement de la pression osmotique physiologique du sérum vis-à-vis des globules, en particulier l'urée. Cette dernière expérience nous montre en outre que, au point de vue physiologique, la pression osmotique du sérum est légèrement supérieure à — 1°06.

Nous allons maintenant déterminer exactement cette pression réelle du sérum vis-à-vis des globules et, pour cela nous allons placer la même quantité de globules dans différents mélanges d'eau de mer et d'eau distillée dont le Δ est inférieur à — 1°06.

(1) Le calibrage de tous les tubes hématocrites qui nous ont servi a été soigneusement vérifié.

Voici les différents volumes occupés dans les différents mélanges par les globules de notre Raie :

Δ DU MÉLANGE	VOLUME DES GLOBULES
— 1°06	56
— 1°10	54,5
— 1°17	52
— 1°25	50

Dans le sérum pur, les globules occupent le volume 52, c'est-à-dire le même que dans la solution de $\Delta = -1^{\circ}17$. Telle est la valeur de la pression osmotique physiologique du sérum, d'après la définition que nous en avons donnée plus haut.

Nous avons répété plusieurs fois ces expériences avec du sang de différentes Raies et nous avons toujours trouvé des résultats analogues.

Nous avons repris ces expériences à Monaco sur du sang de Roussettes.

Le sérum d'un *Scyllium canicula* se congelait à $-2^{\circ}25$. Dans ce sérum les globules occupaient un volume représenté par 66. Voici leur volume dans divers mélanges d'eau de mer et d'eau distillée.

Δ DU MÉLANGE	VOLUME DES GLOBULES
— 1°30	66,5
— 1°44	64
— 1°53	62

Le mélange qui est isotonique au sérum vis-à-vis des globules a donc un Δ voisin de $-1^{\circ}30$, puisqu'il impose aux globules le même volume (66,5) que dans le sérum lui-même (66).

Une autre Roussette, dont le sérum se congelait $-2^{\circ}20$ nous a conduit à la même pression physiologique.

Volume des globules dans le sérum : 58,5.

Δ DU MÉLANGE	VOLUME DES GLOBULES
— 1°28	58
— 1°47	54
— 1°53	53

Par conséquent, la pression physiologique du sérum était très voisine de $-1^{\circ}30$.

Elle est presque la moitié de celle indiquée par le cryoscope.

Ne voulant pas exposer dans le détail toutes les expériences analogues que nous avons effectuées, nous indiquons simplement les résultats dans le tableau suivant :

N°	ESPÈCES	POINT DE CONGÉLATION de l'eau de mer	POINT DE CONGÉLATION du sérum	POINT DE CONGÉLATION de la SOLUTION ISOTONIQUE AU SÉRUM vis-à-vis des globules	LIEU D'OBSERVATION
7	Raie	— 1°84	— 1°89	— 1°17	Arcachon
8	id.	— 1°88	— 1°96	— 1°13	id.
5	Roussette	— 2°15	— 2°25	— 1°30	Monaco
4	id.	— 2°15	— 2°20	— 1°28	id.
3	id.	— 2°15	— 2°23	— 1°30	id.

Il ressort de ce tableau que la pression osmotique du sérum de la Raie et de la Roussette vis-à-vis de leurs globules rouges n'est pas celle qui est indiquée par le cryoscope. Cette pression osmotique est très notablement plus faible que la pression déterminée par la cryoscopie. Il en résulte que le sérum qui est légèrement hypertonique à l'eau de mer lui est en réalité très hypotonique au point de vue physiologique.

La différence entre la pression osmotique physique et la pression physiologique est attribuable à la présence d'une grande quantité d'urée, ce corps ayant la propriété de pénétrer librement dans les globules.

On peut d'ailleurs montrer directement la non influence de l'urée du sérum sur la pression osmotique physiologique de ce liquide. Pour cela nous allons augmenter, par addition d'urée solide, la quantité normalement dissoute dans le sérum et nous allons comparer le volume que les globules occupent dans le sérum ordinaire et dans ce sérum plus riche en urée.

Voici ces volumes :

Dans le sérum pur : 62; dans le sérum dans lequel on a ajouté 20 % d'urée : 61,5.

Comme le sérum normal contient environ 25 ‰ d'urée, il en résulte que l'addition de 20 ‰ d'urée double presque la quantité normale de ce corps dans le sérum. Malgré cela, on peut constater que les volumes globulaires sont pratiquement les mêmes, ce qui montre bien la non influence de l'urée au point de vue de la pression osmotique physiologique.

Jusqu'à présent nous n'avons parlé de la pression osmotique du sérum que vis-à-vis des globules rouges. Il faut naturellement se demander si ce sérum manifestera la même pression vis-à-vis d'autres tissus. Il en sera ainsi chaque fois que ces tissus seront perméables à l'urée. On admet que c'est le cas de la très grande majorité d'entre eux, mais les expériences précises prouvant cette perméabilité sont rares. Elles sont d'ailleurs beaucoup plus difficiles à réaliser que dans le cas des globules rouges. On sait simplement que les tissus des Sélaciens renferment beaucoup d'urée et il faut peut-être voir dans ce fait une confirmation de cette perméabilité à ce corps. Pour déterminer la pression osmotique physiologique du sérum vis-à-vis des tissus, on pourrait peser ceux-ci après immersion dans le sérum, ou, au contraire, dans des mélanges d'eau de mer et d'eau distillée. La pression osmotique du mélange qui ne modifierait pas le poids du tissu représenterait la pression physiologique du sérum. Nous n'avons pas réalisé de telles expériences. Nous pensons que, vis-à-vis de presque tous les tissus du Sélacien, la pression osmotique du sérum est voisine de celle que l'on constate par rapport aux globules sanguins.

Certains tissus sont certainement imperméables à l'urée. Tel doit être le cas de la branchie qui maintient constante la concentration de l'urée du sang sans la laisser diffuser dans l'eau de mer environnante. Nous reviendrons sur cette imperméabilité de la branchie à l'urée dans un prochain paragraphe.

Dans le paragraphe précédent nous avons déterminé, pour la Roussette, quelle proportion de la pression osmotique totale du sérum était attribuable au chlorure de sodium et nous avons trouvé que celui-ci produisait à peu près 45 % de cette pression.

Faisons maintenant un calcul analogue mais en prenant comme pression osmotique du sérum, sa pression physiologique telle que nous venons de la déterminer par l'hématocrite.

Calculons donc le rapport
$$\frac{\text{Pression osmotique due au NaCl}}{\text{Pression osmotique physiologique.}}$$

No	Δ du SÉRUM	Δ correspondant à la pression physiologique DU SÉRUM	NaCl du SÉRUM	Δ attribuable au NaCl	RAPPORT de la pression due au NaCl	
					à la pression cryoscopique	à la pression physiologique
4	— 2°20	— 1°28	16,1	— 1°00	0,45	0,77
3	— 2°23	— 1°30	14,7	— 0°91	0,41	0,70
5	— 2°25	— 1°30	17,0	— 1°06	0,47	0,81

La valeur moyenne du rapport de la dernière colonne est 0,76. Ce nombre est identique pratiquement à celui que nous avons trouvé pour les Téléostéens. Au contraire, en faisant le rapport de la pression due au NaCl à la pression déterminée au cryoscope, nous obtenons un nombre très faible, 0,44 en moyenne. La suite de ce travail montrera que le rapport de la pression produite par le NaCl à la pression osmotique totale à pour valeur 0,66 pour les Mammifères et qu'il va en augmentant au fur et à mesure que l'on descend dans l'échelle animale. Il est égal à peu près à 0,75 pour les Téléostéens et à 0,92 pour les Invertébrés supérieurs (Céphalopodes, Crustacés) et très voisin de 1 pour les Invertébrés inférieurs marins (Échinodermes, Vers). Par suite, comme on admet que le Sélacien, est bien inférieur en organisation au Mammifère, on doit s'attendre à trouver, pour ce rapport, chez le Sélacien une valeur supérieure à celle du Mammifère et voisine de celle du poisson osseux. Or, en prenant comme pression totale la pression fournie par le cryoscope, on trouve pour ce rapport une valeur beaucoup plus faible que celle que l'on attend. Si, au contraire, nous acceptons comme pression totale la véritable pression physiologique, nous trouvons pour le rapport une valeur identique à celle que nous avons déterminée *a priori*. Ceci nous confirme dans le fait que la pression déterminée par le volume globulaire est vraiment celle qui intervient dans les mécanismes physiologiques.

IV. — Variation de la concentration du sang du Sélacien sous l'influence de la modification de la salinité de l'eau de mer environnante

Lorsque nous avons déterminé le point cryoscopique du milieu intérieur des Sélaciens, nous avons vu qu'il n'était pas toujours le même et qu'il semblait dépendre de la salinité de l'eau de mer qui entourait le poisson. C'est ce qui résulte de la comparaison des températures de congélation du sérum de poissons cartilagineux pêchés soit dans l'Atlantique, soit dans la Méditerranée, dont les eaux sont plus concentrées que celles de l'Océan. Nous allons maintenant préciser cette influence du milieu extérieur sur la concentration du sang du Sélacien.

Cette question a été abordée par QUINTON. Ayant constaté, comme nous l'avons vu, que le Téléostéen marin était sans communication osmotique avec l'eau de mer, il se demanda

s'il en était de même du Sélacien. Ses expériences portèrent sur la Torpille, la Roussette, l'Emissole et la Raie. Les animaux sont pesés puis introduits dans des mélanges d'eau de mer et d'eau douce dont la teneur en chlorure de sodium est comprise entre 17 et 20 g. par litre. Quand ils étaient sur le point de mourir, on les retirait et on les pesait. Les animaux survivaient de 2 h. 30 à 12 h. 40. Leur poids avait augmenté de 3 à 20 %. Une Torpille qui avait résisté presque 3 jours dans un mélange dont la teneur primitive de 20,4 g. Na Cl par litre avait été abaissée à 14 g. au bout de 1 jour et 22 heures, avait gagné 41 % de son poids initial. QUINTON constata directement que le sérum des poissons précédents s'était dilué à la suite de ce séjour en milieu hypotonique. La teneur en Na Cl du sérum de la Raie, de la Roussette et de l'Emissole est de 15 à 17 g. par litre. Chez les animaux sortant de l'eau de mer diluée, elle était abaissée à 12 ou 13 g. QUINTON s'assura qu'aucune absorption d'eau n'avait eu lieu par voie abdominale, le liquide péritonéal étant même plus rare que chez les animaux normaux et l'auteur conclut : « Le Sélacien, tout en possédant une concentration saline indépendante de celle du milieu extérieur, reste sous la dépendance osmotique de ce milieu. »

L. FRÉDÉRICQ fit des expériences du même genre mais en utilisant le cryoscope et en dosant simultanément l'urée et les sels du sérum. Le sang d'un Scyllium, qui avait séjourné 27 heures dans un mélange d'eau de mer et d'eau douce de $\Delta = -1^{\circ}67$ se congelait à $-1^{\circ}70$. Une autre Roussette placée pendant 24 heures dans de l'eau de mer concentrée de $\Delta = -2^{\circ}72$, présentait comme point de congélation de son sang $-2^{\circ}70$. Ayant additionné d'un peu de nitrate de soude les deux solutions dans lesquelles les Sélaciens séjournèrent, il ne put retrouver aucune trace de ce sel dans leur plasma. De ses expériences L. FRÉDÉRICQ conclut que le sérum du Sélacien devient très sensiblement isotonique avec le milieu extérieur et que le nouvel équilibre osmotique semble s'établir par simple transport d'eau à travers les surfaces d'échanges de l'animal. Le sang se dilue ou se concentre en bloc, comme le montrent les variations dans les teneurs absolues en sels et en urée et le peu de variations, au contraire, dans les proportions de sels comparées à celles de l'urée.

Dans le travail de FRÉDÉRICQ, l'eau de mer qui entourait les poissons était assez peu diluée ou assez peu concentrée pour permettre une survie des poissons supérieure à 24 heures. GARREY, au contraire, transporta des *Mustellus canis* dans des mélanges de faible salinité. Dans l'eau douce, ce Sélacien résiste environ une heure. Le Δ de son sang s'abaisse alors à $-1^{\circ}45$. Dans le mélange à parties égales d'eau de mer et d'eau douce la survie est de 3 heures. Le Δ de ce mélange est $-1^{\circ}02$. Celui du sang du *Mustellus* est, au moment de la mort, de $1^{\circ}60$. GARREY conclut que les Sélaciens supportent mal la dilution de l'eau de mer et qu'ils meurent avant que l'équilibre osmotique ne soit établi entre leurs milieux intérieur et extérieur.

Chacun des physiologistes précédents n'a étudié que l'influence d'un très petit nombre de concentrations différentes de celle de l'eau de mer, sur la pression osmotique du sang du Sélacien. FRÉDÉRICQ n'a fait que deux expériences sur la Roussette, un de ces animaux étant placé dans de l'eau de mer peu diluée, l'autre dans de l'eau de mer concentrée. De même GARREY, sur *Mustellus canis*, n'a utilisé que deux liquides de faible salinité.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de transporter des représentants d'une même espèce de Sélaciens dans des solutions dont la salinité varierait depuis celle de l'eau douce jusqu'à celle de l'eau de mer fortement sursalée. Ce travail permettra de voir comment varie la pression osmotique (mesurée au cryoscope) du sérum de ce Sélacien en fonction de celle de son milieu extérieur. C'est ce travail, réalisé au Musée océanographique de Monaco que nous allons maintenant exposer. Nous avons utilisé des Roussettes dont le poids oscillait

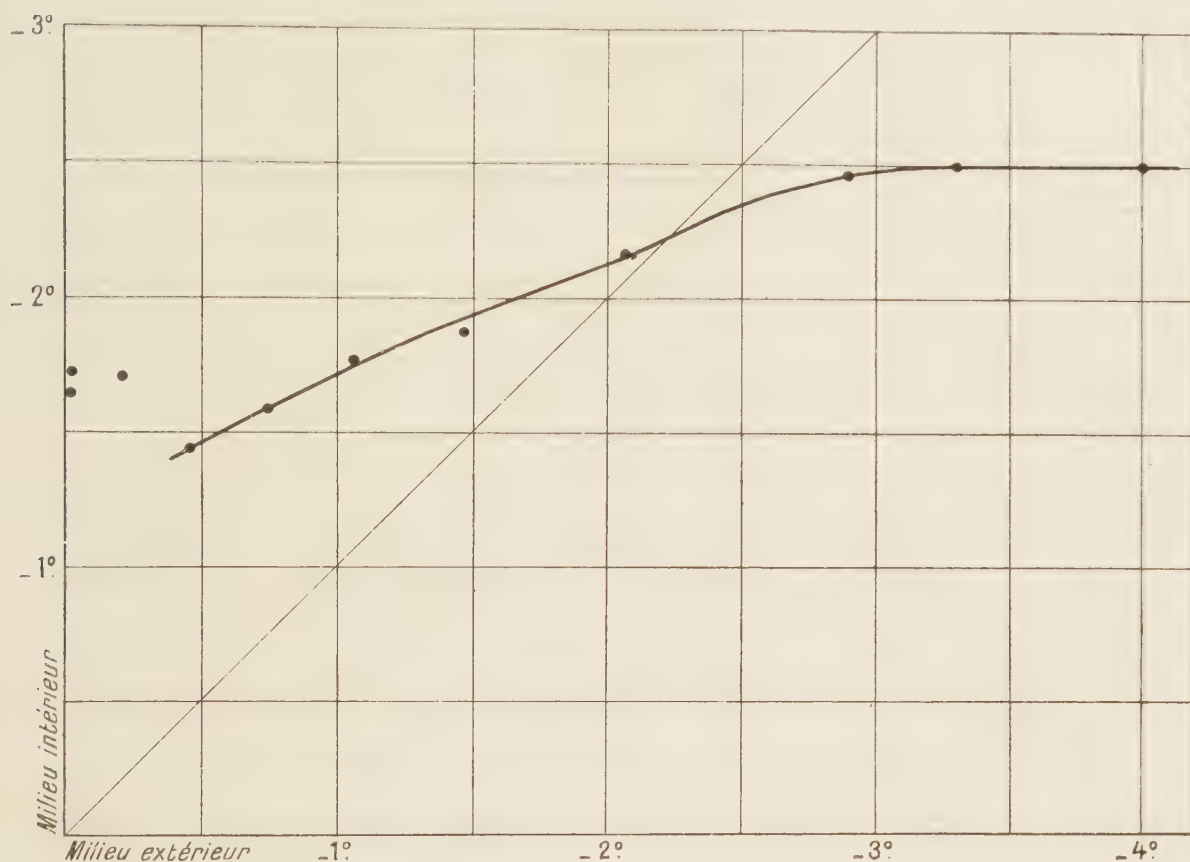
entre 300 et 500 g. Ces animaux, conservés depuis quelques jours dans un aquarium à eau de mer courante, étaient ensuite placés soit dans l'eau douce, soit dans des mélanges en proportions variables d'eau de mer et d'eau douce, soit enfin dans de l'eau de mer dont on avait élevé la salinité par addition d'une dose convenable de sel marin. Dans toutes les expériences que nous avons faites, la concentration du milieu extérieur du poisson a donc varié brusquement. Les Sélaciens supportent mal cette modification de leur milieu extérieur. Ils succombent rapidement quand la pression osmotique de ce milieu diffère un peu notablement de celle de l'eau de mer dans laquelle ils étaient conservés. Aussi la durée de séjour de nos Roussettes dans les mélanges hypo ou hypertoniques n'a été que de quelques heures. Le plus souvent, on retirait les poissons quand ils étaient mourants. Ils étaient alors saignés et le sang complet défibriné était cryoscopé. Le sang était alors retiré du cryoscope. On le centrifugeait et on dosait le chlorure de sodium dans le sérum, toujours un peu hémolysé, par suite de la cryoscopie.

Dans le tableau qui suit, nous indiquons les résultats obtenus. Nous avons en outre calculé le rapport de la pression osmotique produite par le Na Cl à la pression osmotique totale du sérum. Comme nous avons déjà eu l'occasion de le dire, la constance ou la variation de ce rapport montre si les échanges osmotiques sont limités à un mouvement d'eau ou si, au contraire, les sels y prennent part, ce qui entraîne une modification de la composition chimique relative du sérum.

Une courbe montre plus clairement que le tableau la relation qui semble exister entre la concentration du sang de la Roussette et celle du milieu qui l'entoure, quand la salinité de ce milieu est modifiée brusquement.

DURÉE du SÉJOUR du poisson dans la solution	ÉTAT du POISSON à la fin du séjour	NATURE de la SOLUTION	Δ de la SOLUTION	Δ du SANG	Na Cl du SÉRUM	Δ attribuable au Na Cl DU SÉRUM	RAPPORT de la PRESSION osmotique due au Na Cl à la PRESSION osmotique totale DU SÉRUM
1 h. 10	Mourant	Eau douce	— 0°02	— 1°64	»	»	»
1 h. 10	Id.	Id.	— 0°02	— 1°72	11,1	— 0°69	0,40
2 h.	Id.	Eau de mer diluée	— 0°21	— 1°70	12,2	— 0°76	0,45
3 h. 30	Id.	Id.	— 0°46	— 1°44	»	»	»
5 h.	Malade	Id.	— 0°74	— 1°58	11,7	— 0°73	0,46
3 h. 30	Très bon	Id.	— 1°07	— 1°76	13,6	— 0°84	0,48
6 h. 20	Assez bon	Id.	— 1°47	— 1°87	13,9	— 0°86	0,46
»	Normal	Eau de mer pure	— 2°08	— 2°17	15,7	— 0°97	0,45
»	Id.	Id.	— 2°08	— 2°20	»	»	»
3 h. 45	Mourant	Eau de mer sursaturée	— 2°90	— 2°46	»	»	»
1 h. 40	Id.	Id.	— 3°30	— 2°50	»	»	»
2 h. 20	Id.	Id.	— 4°	— 2°50	20,2	— 1°25	0,50

Les résultats de ces déterminations montrent que la concentration du milieu intérieur du Sélacien est fonction de celle du liquide qui les entoure, comme toutes les recherches effectuées jusqu'à présent l'avaient montré.



Point de congélation du sang de la Roussette en fonction de celui du milieu extérieur (Adaptation brusque).

Nous constatons, lorsque le milieu extérieur possède une très faible salinité (eau douce ou mélange se congelant à $-0^{\circ}21$) que le sang de la Roussette se dilue moins que pour des salinités extérieures plus fortes. Ainsi on trouve, pour le sang de l'animal mourant dans l'eau douce des Δ de $-1^{\circ}64$ et $-1^{\circ}72$, alors que celui du sang des animaux retirés dans le même état pathologique, des mélanges se congelant à $-0^{\circ}46$ et $-0^{\circ}74$, est respectivement $-1^{\circ}44$ et $-1^{\circ}58$. Ces résultats, de prime abord inattendus, s'expliquent facilement quand on considère les temps pendant lesquels les Roussettes sont restées dans chaque solution. Dans l'eau douce (1) elles n'ont séjourné qu'une heure dix minutes et, dans le mélange de $\Delta = -0^{\circ}21$, deux heures. La mort de l'animal survient bien avant que les échanges n'aient abouti à un équilibre osmotique stable entre le sang du poisson et son milieu extérieur. Au contraire, une plus forte salinité permet une survie plus longue de l'animal. Les échanges

(1) Mosso a trouvé comme nous que les Scylliums placés dans l'eau douce mouraient en une heure environ. Il constata en outre que la circulation cessait au bout d'une demi-heure, bien que le cœur continuât à battre. L'arrêt de la circulation est dû à l'obstruction des capillaires des branchies. La mort survient donc par asphyxie et n'est produite qu'indirectement par l'hypotonie de l'eau douce.

osmotiques se faisant pendant un temps plus long, on comprend que le sang du poisson se dilue davantage, bien que le milieu extérieur soit plus concentré que dans le premier cas.

Il est d'ailleurs probable que dans toutes nos expériences l'équilibre stable entre les deux milieux du poisson n'était pas réalisé quand celui-ci était retiré mourant de la solution. Dans les recherches de FRÉDÉRICQ, ses Roussettes survivaient bien plus longtemps que les nôtres car les milieux dans lesquels il les transportait étaient, soit moins dilués, soit moins concentrés, que ceux qui baignaient nos Roussettes. Aussi FRÉDÉRICQ observa-t-il l'identité presque complète entre les points de congélation du sang et de l'eau de mer extérieure. On sait que l'on arrive à la même isotonie (1) du sang avec l'eau de mer quand on détermine le Δ du sang de Sélaciens provenant de mers de salinités différentes, la Méditerranée ou le bassin d'Arcachon.

Rien d'ailleurs ne prouve que si l'on parvenait à faire vivre longtemps des Sélaciens dans de l'eau de mer fortement diluée (se congelant par exemple vers $-1^{\circ}20$), l'équilibre stable correspondrait à l'isotonie du sang avec cette eau de mer de faible salinité. Il nous semble plus vraisemblable qu'à partir d'une certaine dilution du milieu extérieur, le sang tend à conserver une composition plus fixe.

Pour vérifier cette hypothèse il faudrait faire vivre un Sélacien dans une eau de mer assez diluée. Cela pourrait sans doute se réaliser en diminuant lentement la salinité du milieu habituel de l'animal, c'est-à-dire qu'il faudrait réaliser des expériences d'adaptation lente, analogues à celles que nous avons effectuées sur la Carpe, mais en sens inverse, puisqu'il faut cette fois-ci diminuer la salinité et non l'augmenter. Pour cette recherche, il serait préférable d'utiliser des Sélaciens du bassin d'Arcachon qui vivent déjà dans une eau relativement peu concentrée. Nous n'avons pas jusqu'à présent réalisé de telles expériences mais nous comptons bien les entreprendre dès que les circonstances nous le permettront.

En examinant la dernière colonne du tableau, on constate que le rapport de la pression osmotique attribuable au Na Cl à la pression osmotique totale oscille entre 0,40 et 0,50. Si l'on excepte les chiffres extrêmes 0,40 et 0,50 provenant d'animaux plongés soit dans l'eau douce, soit dans de l'eau de mer très sursalée, ce rapport est pratiquement le même pour tous les animaux du tableau et identique à celui que donne le poisson normal 0,45. Il en résulte que les phénomènes osmotiques se sont limités, chez tous ces animaux, à un mouvement d'eau qui n'a pas altéré la composition chimique relative du sérum. FRÉDÉRICQ avait constaté ce fait, mais les milieux dans lesquels il faisait vivre ses Roussettes étaient bien moins dilués ou concentrés que les nôtres. Ainsi ce rapport est égal à 0,46 pour le sang d'une Roussette qui a séjourné 5 heures dans un liquide de $\Delta = -0^{\circ}74$. La valeur de ce rapport est la même que pour l'animal normal. Nous étendons donc la conclusion de FRÉDÉRICQ à des animaux qui ont été placés dans de l'eau de mer très faible de salinité. Malgré cette hypotonie, les surfaces d'échanges se sont montrées semi-perméables vis-à-vis du sérum. Cette semi-perméabilité est-elle durable et persisterait-elle si l'animal se maintenait en vie plus longtemps? Les expériences d'adaptation lente nous renseigneront également sur ce sujet. Dans le cas où la Roussette est plongée dans l'eau douce, le rapport s'abaisse à 0,40. Bien que ce chiffre s'écarte peu de la valeur moyenne admise pour l'animal normal, il semble cependant indiquer une légère modification de composition du sang. Cette diminution montre que le Na Cl a traversé les surfaces d'échanges pour pénétrer dans le milieu extérieur. Il eût été facile de déceler chimiquement ce chlorure de sodium, dans l'eau douce qui constituait le milieu exté-

(1) En réalité, une légère hypertonie, comme nous l'avons montré.

rieur de l'animal, mais, à l'époque où nous avons entrepris ce travail sur les Sélaciens, nous ne déterminions pas la part qui revenait au chlorure de sodium dans l'établissement de la pression osmotique et nous n'avons pas été ainsi amené à faire cette recherche.

La Roussette placée dans l'eau de mer la plus concentrée présente une valeur du rapport qui s'écarte un peu de la valeur habituelle, mais en sens opposé à celui du chiffre précédent. Cette fois encore, la proportion relative des constituants dissouts du sérum paraît avoir changé. Dans le cas présent, la proportion de Na Cl a augmenté. Cela provient sans doute d'un passage du sel de l'eau de mer dans le sérum à travers les surfaces d'échanges qui ne sont plus rigoureusement semi-perméables quand la salinité de l'eau entourant le poisson est très différente de ce qu'elle est habituellement. Selon que le sens de cette différence correspond à une diminution ou à une augmentation de la salinité de l'eau de mer, les surfaces d'échanges laissent sortir le chlorure de sodium du sang ou, au contraire, laissent pénétrer dans le sang le chlorure de sodium de la solution. Nous avons observé un phénomène analogue chez les Carpes placées dans de l'eau douce suffisamment chargée de chlorure de sodium.

V. — Les tissus extérieurs du Sélacien sont-ils perméables à l'urée? Variation de la concentration du sang du Sélacien quand la pression osmotique du milieu extérieur est produite par de l'urée

En exposant les considérations qui nous ont conduit à déterminer la pression osmotique physiologique du sérum des Sélaciens, nous avons été amené à envisager la perméabilité des divers tissus vis-à-vis de l'urée. Suivant que les tissus sont imperméables à cette substance ou non, la pression osmotique du sérum vis-à-vis du liquide cellulaire est la même que celle que l'on détermine par le cryoscope ou en est différente (cas des globules rouges). Nous avons vu que l'on avait des raisons de penser que la majorité des tissus étaient perméables à l'urée mais que, cependant, certains devaient être pour ce corps un obstacle infranchissable. On est en effet conduit à admettre que, chez le Sélacien, l'accumulation d'urée dans le milieu intérieur est une conséquence de l'imperméabilité pour cette substance, des branchies et des téguments qui séparent le milieu externe du milieu interne. Si cette imperméabilité n'existait pas l'urée diffuserait dans le milieu extérieur, ce qui ne se produit pas.

Dans le paragraphe précédent, nous avons déterminé comment variait la pression osmotique physique du sang de Sélacien quand on modifiait celle de l'eau de mer qui entoure le poisson.

Supposons maintenant que le Sélacien, au lieu d'être plongé dans une solution saline, soit placé dans une solution d'urée se congelant à la même température, c'est-à-dire ayant la même pression osmotique que la solution saline. Quelle va être l'influence de cette solution d'urée sur la pression osmotique du sérum de l'animal, comparativement à la solution saline isotonique ?

D'après ce que nous avons exposé, si les surfaces d'échanges du Sélacien avec le milieu extérieur sont imperméables à l'urée, comme elles le sont pour les sels, le point de congélation du sang ne dépendra que de la pression osmotique du liquide environnant, et non des substances, sels ou urée, qui sont la cause de cette pression osmotique. La solution saline et la solution d'urée isotonique imposeront le même point de congélation au sérum.

Si, au contraire, l'urée traverse librement les surfaces d'échanges, elle n'aura aucune influence osmotique. Ses solutions, quelle que soit la concentration de l'urée, se comporteront comme de l'eau distillée et le point de congélation du sang du Sélacien sera le même que si le poisson avait pour milieu extérieur de l'eau douce.

Nous allons maintenant placer des Roussettes dans des solutions d'urée de diverses concentrations et voir si le point de congélation de leur sang devient le même que si les poissons étaient entourés par des mélanges d'eau de mer et d'eau douce isotoniques aux solutions d'urée. De l'égalité ou de l'inégalité des résultats, nous déduirons l'imperméabilité ou la perméabilité à l'urée des tissus qui sont le siège des échanges osmotiques du Sélacien.

Les expériences ont été réalisées avec une technique exactement identique à celle que nous avons exposée au paragraphe précédent. Elles ont été effectuées à la même époque. Par suite elles sont entièrement comparables. Le tableau ci-dessous indique les résultats obtenus.

La dernière colonne contient le Δ que présenterait le sang de Roussettes placées dans des mélanges d'eau de mer et d'eau douce isotoniques, aux solutions d'urée. Ces points de congélation sont déduits de la courbe de la page 87.

N°	DURÉE du SÉJOUR du poisson	ÉTAT du POISSON à la fin du séjour	Δ de la SOLUTION D'URÉE	Δ DU SANG de la ROUSSETTE	Δ DU SANG du POISSON placé dans une solution saline isotonique
1	2 h. 30	Mourant	— 0°36	— 1°51	— 1°50
2	2 h.	Id.	— 0°54	— 1°85	— 1°46
3	2 h.	Id.	— 0°81	— 1°61	— 1°50
4	2 h.	Assez bon	— 1°26	— 1°92	— 1°84
5	2 h.	Très bon	— 1°50	— 1°82	— 1°90
6	3 h. 30	Mourant	— 1°95	— 2°14	— 2°14
7	3 h. 45	Id.	— 2°70	— 2°48	— 2°46

L'examen de ces documents montre que les Roussettes supportent mal les solutions d'urée, dans lesquelles elles meurent rapidement.

La comparaison des deux dernières colonnes indique qu'au contact de la solution d'urée le poisson modifie la concentration de son milieu intérieur de la même manière que si la pression osmotique du liquide qui l'entoure était produite par des sels. En effet, à part la Roussette n° 2, les différences entre les chiffres des deux dernières colonnes sont faibles. Ces différences, tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre, sont probablement dues au fait que les animaux ne sont pas restés des temps identiques dans les solutions d'urée et les mélanges salins. La concordance est suffisante pour montrer que l'urée joue un rôle osmotique. Au lieu de placer les Roussettes dans des solutions d'urée, nous pouvons les transporter dans des solutions mixtes d'urée et de chlorure de sodium. On constate que le Δ du sang des Roussettes est fonction de la pression osmotique totale de la solution et non uniquement de celle produite par le chlorure de sodium.

Dans une solution de $\Delta = -2°01$ dont $-1°07$ sont dûs au Na Cl et $-0°94$ à l'urée, le point cryoscopique du sang d'un Scyllium devient $-2°02$ après un séjour de 4 heures. Si le Na Cl avait seul une influence osmotique, le sang se congèlerait à $-1°76$, d'après le tableau de la page 86.

Toutes ces expériences s'accordent donc pour mettre en évidence le rôle osmotique de l'urée. Nous en concluons que les surfaces d'échanges du poisson cartilagineux sont imperméables à cette substance. L'accumulation d'urée dans le sang nous montrait que ces surfaces

étaient imperméables à ce corps dans le sens de l'intérieur vers l'extérieur. Elles le sont aussi dans le sens inverse.

De toutes ces recherches il se dégage que certains tissus du Sélacien, en particulier ceux qui le séparent du milieu extérieur sont imperméables à l'urée. Les autres, comme les globules sanguins, se laissent pénétrer par cette substance. Grâce à cette perméabilité différente d'un tissu à un autre et à la forte teneur en urée du sérum, il en résulte que celui-ci est sensiblement (1) isotonique avec l'eau de mer, ce qui éloigne le Sélacien du Téléostéen pour le rapprocher de l'Invertébré marin. Par contre, vis-à-vis de la plupart des tissus et spécialement des globules, la pression osmotique effective de ce même sérum est beaucoup plus faible que celle de l'eau de mer. Cela rapproche le Sélacien du Téléostéen et l'éloigne de l'Invertébré. Le schéma ci-dessous représente graphiquement la pression osmotique du sérum de la Roussette vis-à-vis de l'eau de mer et des globules rouges.



(1) En réalité, légèrement hypertonique comme nous avons vu.

CHAPITRE VII

Étude de l'Invertébré marin

I. — Généralités

Un grand nombre d'Invertébrés n'ont pas, à proprement parler, de milieu intérieur. Chez eux, milieu intérieur et milieu extérieur se confondent. C'est le liquide ambiant qui baigne tous les tissus. Tel est le cas des Protozoaires et de certains Métazoaires (Spongiaires et Coelentérés). L'appareil digestif et l'appareil circulatoire ne font qu'un. Les espèces marines ont donc l'eau de mer à la fois comme milieu extérieur et comme milieu intérieur. Les Échinodermes commencent à posséder un véritable milieu intérieur mais il est en communication avec le liquide environnant par les canaux de la plaque madréporique. Chez les Holothuries, les plus perfectionnés des Échinodermes, cette communication anatomique n'existe plus car la plaque madréporique s'est enfoncée à l'intérieur du corps de l'animal. Les Holothuries sont donc les premiers Invertébrés à posséder un milieu intérieur sans relation anatomique avec l'eau de mer qui les entoure.

Notre étude des Invertébrés marins commencera aux Échinodermes puisqu'ils sont les premiers êtres à posséder un milieu intérieur distinct.

Parmi les Invertébrés marins, certains vivent exclusivement dans l'eau de mer et n'ont aucun représentant d'eau douce. Tels sont les Échinodermes qui ont même déserté les régions peu salées de la Baltique. D'autres au contraire sont adaptés aux changements de salinités. Ils sont euryhalins. C'est le cas du *Carcinus maenas*, Crustacé très abondant sur nos côtes et qui remontent dans les rivières.

Dans un paragraphe spécial nous étudierons les particularités physiologiques résultant de cette adaptation.

II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du milieu intérieur des Invertébrés marins

C'est encore le nom de BOTTAZZI que nous devons citer le premier parmi ceux des physiologistes qui se sont préoccupés de la pression osmotique du sang des Invertébrés marins. Dès 1897 il indiqua le point de congélation du sang de plusieurs espèces et il trouva que la moyenne de toutes les déterminations cryoscopiques effectuées sur le sang était égale à la moyenne des mesures faites sur l'eau de mer dans laquelle vivaient ces animaux. Il en conclut que la pression osmotique du milieu intérieur des Invertébrés marins était la même que celle de l'eau de mer. Ses recherches portèrent sur des Invertébrés très divers : Alcyonaires — Échinodermes — Vers — Crustacés — Céphalopodes.

L. FRÉDÉRICQ fit un peu plus tard des déterminations analogues, mais il mesure simultanément le point de congélation du sang de l'animal et celui de l'eau de mer de laquelle il vient de le retirer. L'écart entre les deux Δ ne dépasse pas 0°03.

En Amérique, GARREY étudie quelques Invertébrés, dont plusieurs, comme le Limule, sont propres à ce pays. Il confirme les conclusions des physiologistes européens et trouve que l'écart entre le point de congélation du sang et celui de l'eau de mer n'atteint jamais 0°02. Toutes ces mesures s'accordent pour montrer que la concentration moléculaire du milieu intérieur de l'Invertébré marin est la même que celle du milieu extérieur.

Avant que le cryoscope ne soit employé par des physiologistes, ceux-ci s'étaient demandé si la composition chimique du sang des Invertébrés était la même que celle de l'eau de mer, ou non. MOURSON et SCHLAGDENHAUFFEN étudièrent le liquide d'Oursins. En rapprochant les résultats de leur analyse de ceux d'analyses effectuées sur de l'eau mer de Toulon d'où provenaient les Oursins, ils constatèrent que le liquide de ces Échinodermes avait la même composition minérale que l'eau de mer. Le liquide animal contenait par contre moins d'oxygène et plus de gaz carbonique et quelques rares substances organiques. C'est de l'eau de mer modifiée par les produits de la respiration et de l'excrétion.

L. FRÉDÉRICQ montra en 1882 et 1884 que la proportion de sels solubles contenus dans le sang des Crustacés et des Invertébrés marins en général ne différait pas beaucoup de la teneur en sels de l'eau de mer dans laquelle vivent les animaux. Cependant il trouva que le milieu intérieur de certaines espèces, des Crustacés en particulier, était systématiquement plus pauvre en sels que l'eau de mer. Par exemple l'hémolymph de *Carcinus maenas* pêchés à Roscoff fournissait 30,07 ‰ de cendres totales alors que l'eau de mer contenait 34 g. de sels par litre.

QUINTON, à la suite d'un grand nombre de dosages de chlorure de sodium dans le sang des Invertébrés et dans l'eau de mer constata qu'en moyenne la dose de chlore était la même dans l'eau de mer et dans le milieu intérieur des Invertébrés marins. Tantôt c'était le sang qui était plus riche en chlorure de sodium, tantôt c'était l'eau de mer. Aussi QUINTON admit-il l'identité de la teneur en chlorure de sodium des deux milieux de l'animal. Nous ne reproduisons pas ses déterminations. On les trouvera réunies à la page 136 de son livre « L'eau de mer, milieu organique ». La conclusion de QUINTON est en désaccord avec celle de L. FRÉDÉRICQ, à propos d'un certain nombre d'Invertébrés, de ceux dont le sang, d'après celui-ci contient moins de matières minérales que l'eau de mer. QUINTON s'aperçut de ce désaccord. Il l'expliqua par une faute de technique de FRÉDÉRICQ. Il écrit : « Les chiffres de FRÉDÉRICQ, exprimant les sels, sont tous trop faibles, surtout ceux exprimant les sels de l'hémolymph. Dans la calcination nécessitée par la matière organique, une partie des chlorures devait être volatilisée. »

L. FRÉDÉRICQ, dans son mémoire de 1904 constate de nouveau que le sang de Crustacés et de Céphalopodes est moins riche en matières minérales que l'eau de mer. Il avait en outre découvert antérieurement (1891) que, malgré cette teneur inférieure à celle de l'eau de mer, le sang de ces Invertébrés est sensiblement en équilibre de diffusion avec le milieu extérieur. Si l'on place le sang dans un dialyseur que l'on suspend dans un vase renfermant de l'eau de mer et que l'on renouvelle par un courant continu, on peut dialyser pendant plusieurs jours sans modifier d'une façon bien sensible la teneur en sels du sang. Ainsi, avant dialyse, du sang d'*Octopus* contenait 3 % de sels. Après dialyse, sa teneur était encore de 3 %. Du sang de *Maia verrucosa* contenait 3,55 % avant la dialyse, après 3,62 %. Dans ce dernier cas, la dialyse a augmenté la quantité des sels de 2 % par rapport à la quantité totale. FRÉDÉRICQ ajoute que, même après dialyse, la quantité des sels du sang est notablement plus faible que celle de l'eau de mer. Malheureusement il n'indique pas la teneur en sels de l'eau de mer contre laquelle il a dialysé le sang.

Il explique par la présence des matières albuminoïdes cette contradiction apparente entre l'équilibre de diffusion et la teneur plus faible du sang en substances salines. Nous avons déjà développé l'explication de FRÉDÉRICQ et nous n'y reviendrons pas maintenant.

De toutes ces recherches, il résulte que le milieu intérieur des Invertébrés marins est isotonique avec l'eau de mer, à 0°02 près. C'est là un fait bien établi.

FRÉDÉRICQ montre en outre que ce milieu est à peu près en équilibre de diffusion avec l'eau de mer bien que chez certains Invertébrés supérieurs, il soit plus pauvre en sels que l'eau de mer.

QUINTON, de son côté, prétend que le sang de l'Invertébré marin contient très sensiblement autant de chlore, compté en Na Cl, que l'eau de mer. Il ajoute même : « Le milieu vital des Invertébrés marins est, au point de vue minéral, le milieu marin lui-même. » Maintenant c'est une notion classique que le milieu intérieur de ces Invertébrés est caractérisé par une composition chimique semblable à celle de l'eau de mer.

Dans les recherches que nous avons effectuées, nous avons eu comme but principal de voir si le sang de certains Invertébrés marins contient moins de chlorures que l'eau de mer, et, en cas où une différence de teneur existerait, quelle en est l'importance. Nous avons cherché à éviter toutes causes d'erreurs expérimentales. La méthode de dosage du chlore a été la même que celle utilisée en étudiant le milieu intérieur des poissons. Nous n'y reviendrons pas puisque nous l'avons déjà exposée, avec détails, au début de cet ouvrage. Retenons qu'elle est plus précise que celle dont se servait QUINTON.

Comme nous l'avons déjà indiqué à propos des Sélaciens, il importe, quand on veut comparer la concentration ou la composition du sang d'un animal marin à celle de l'eau de mer qui l'entoure, d'être sûr que ce sang est en équilibre d'échanges avec cette eau de mer. Cette condition ne paraît pas avoir beaucoup préoccupé les expérimentateurs qui nous ont précédé. Pour les animaux provenant de la Méditerranée, cet équilibre est presque toujours réalisé car, dans un petit rayon, la salinité de l'eau varie peu d'un endroit à l'autre. Aussi l'eau de mer dans laquelle on a pu conserver l'animal à la Station biologique a très sensiblement la même concentration que celle dans laquelle l'Invertébré a été pêché et avec laquelle il était en équilibre. Dans le bassin d'Arcachon, la salinité n'est pas la même d'un endroit à un autre. Il en résulte que si l'on pêche par exemple une Étoile de mer au milieu du Bassin et qu'on la conserve ensuite quelques heures dans l'eau de mer pompée au Laboratoire, il y a de fortes chances pour que cette eau de mer possède une salinité différente de celle qui entourait l'animal au moment de sa capture (1).

Si l'on prélève l'hydrolymphe de l'Étoile peu de temps après son introduction dans l'aquarium du Laboratoire, ce liquide n'aura pas eu le temps de se mettre exactement en équilibre avec l'eau de l'aquarium. Si on compare, par exemple, la teneur en Na Cl de cette hydrolymphe avec celle de l'eau de l'aquarium, cette comparaison n'aura pas grande signification physiologique puisqu'elle porte sur des liquides qui ne sont pas en équilibre d'échanges. Entre les teneurs en chlore de l'hydrolymphe et de l'eau de l'aquarium on trouvera une différence alors que nous montrerons que si l'on avait maintenu suffisamment longtemps l'Étoile dans l'eau de l'aquarium, aucune différence ne se serait manifestée. Nous pensons que QUINTON, qui travaillait à Arcachon, a été victime d'erreurs de cette sorte. Nous y reviendrons quand nous comparerons nos résultats aux siens.

(1) En prélevant le liquide qui baigne l'animal au moment de sa capture, on n'est pas certain que le milieu intérieur de l'animal soit en équilibre avec ce liquide car, en un point donné, la salinité dépend de l'état de la marée et varie, par suite, continuellement.

Pour la plupart des Invertébrés, 24 heures sont suffisantes pour que leur milieu intérieur se mette en équilibre avec l'eau de mer. Par excès de précautions, nous avons toujours laissé nos animaux plusieurs jours dans la même eau de mer avant de les utiliser.

Nous avons toujours évité de conserver à sec les animaux, spécialement les Crustacés, que l'on venait de pêcher, même en les entourant d'algues mouillées. Dans ces conditions, en effet, la concentration du milieu intérieur de l'animal s'élève assez rapidement et, quand on le replonge dans l'eau de mer, il a besoin d'un temps très notable pour égaliser la pression osmotique de son sang avec celle de l'eau qui l'entoure.

Voici un lot de *Carcinus maenas* conservés à sec depuis plusieurs jours. On les place dans de l'eau de $\Delta = -2^{\circ}01$.

Au bout de 5 heures, plusieurs sont saignés. Leur sang se congèle à $-2^{\circ}17$. Après 17 heures de séjour, le Δ du sang est $-2^{\circ}07$. Normalement on s'attendrait à ce que le point de congélation soit de $-2^{\circ}01$, identique à celui de l'eau de mer. Ces expériences montrent avec quelle lenteur la concentration du milieu intérieur de l'animal revient à sa valeur normale. Ajoutons d'ailleurs que ce phénomène est particulièrement accentué avec les *Carcinus maenas*.

Il importera donc de ne jamais laisser les animaux hors de l'eau. Cette prescription a toujours été observée.

Au moment de la prise de sang, les animaux sont retirés de l'aquarium et soigneusement essuyés. Les Crustacés sont saignés par section d'une ou plusieurs pattes, les Siponcles par ouverture, avec des ciseaux, de la paroi du corps en évitant la perforation de l'intestin, les Buccins par section du pied. Les Seiches sont fixées sur une planche puis on ouvre le manteau. La cavité palléale est soigneusement essuyée avec du papier buvard blanc. On sectionne alors une des veines branchiales et on recueille le sang qui s'écoule et s'accumule dans la cavité. Comme milieu intérieur de l'Arénicole, c'est le liquide coelomique que l'on a prélevé et non le sang proprement dit car ce liquide est trop peu abondant. En général, il suffisait de prélever le milieu intérieur d'un seul individu pour avoir le volume de liquide nécessaire à une analyse. Exceptionnellement, on a dû réunir le sang provenant de deux Buccins.

Le sang des Crustacés, Céphalopodes et Gastéropodes, se clarifie vite par repos après agitation. Celui de Siponcle laisse déposer assez rapidement ses hématies. Dans tous les cas on a prélevé pour l'analyse la partie limpide du sang.

Le tableau qui suit résume les résultats obtenus. Dans la dernière colonne, nous indiquons le rapport de la quantité de chlorure de sodium du sang à celle de l'eau de mer.

L'examen de ces différents chiffres montre que la teneur en chlorure de sodium du milieu vital des Invertébrés marins n'est jamais supérieure mais au plus égale à celle de l'eau de mer avec laquelle ils sont en équilibre osmotique. QUINTON indique très souvent des concentrations supérieures pour le milieu vital (1). Nous pensons qu'elles sont dues au fait que ce milieu vital n'était pas en équilibre avec l'eau de mer, ou à l'imperfection de la méthode analytique qui peut introduire une erreur par excès sur la quantité de chlorure de sodium trouvée dans le sang des animaux.

On constate que la teneur en Na Cl du sang d'un certain nombre d'Invertébrés marins (Crustacés, Céphalopodes, Gastéropodes) n'est jamais égale mais toujours inférieure d'une quantité sensible à celle du milieu environnant. Cette différence, faible chez certains animaux est au contraire très notable chez d'autres. Par exemple le Bernard Lhermite ne contient dans son sang que les 8/10 de la quantité de chlorure de sodium dissous dans un même volume

(1) Particulièrement nombreuses pour *Asterias rubens* et surtout *Sipunculus robustus*.

d'eau de mer. Par contre, l'*Atelecyclus* en contient 97/100. Si nous faisons la moyenne de tous les rapports, différents de l'unité, consignés dans la dernière colonne nous obtenons 0,91. Par conséquent, la concentration en Na Cl du sang de tous ces Invertébrés n'est qu'un peu

	TENEUR EN Na Cl EN GRAMMES PAR LITRE		RAPPORT NaCl du sang
	du sang	de l'eau de mer	NaCl de l'eau de mer
Echinodermes			
<i>Asterias rubens.</i>	32,7	32,7	1
id.	32,7	32,7	1
Vers			
<i>Sipunculus nudus.</i>	33,3	33,3	1
id.	34,4	34,4	1
<i>Arenicola piscatorum.</i>	34,4	34,4	1
Gastéropodes			
<i>Buccinum undatum.</i>	31,8	33,3	0,95
Céphalopodes			
<i>Sepia officinalis.</i>	32,2	35,1	0,92
id.	32,2	35,1	0,92
id.	31,4	34,6	0,91
id.	31,4	34,6	0,91
id.	31,4	34,3	0,92
Crustacés			
<i>Palinurus vulgaris.</i>	30,4	35,0	0,87
<i>Homarus vulgaris.</i>	30,2	31,3	0,96
<i>Atelecyclus cruentatus.</i>	31,8	32,7	0,97
<i>Maia squinado.</i>	31,5	33,3	0,94
id.	31,5	33,3	0,94
<i>Platycarcinus pagurus.</i>	27,5	33,0	0,83
id.	30,1	32,1	0,93
id.	29,8	32,1	0,92
id.	32,7	34,4	0,95
<i>Pagurus bernhardus.</i>	28,1	33,0	0,85
id.	25,8	32,7	0,79
<i>Portunus puber.</i>	30,2	33,0	0,92
id.	30,7	32,4	0,95
id.	31,0	33,3	0,93
id.	32,1	34,4	0,93
<i>Carcinus mœnas.</i>	29,2	33,0	0,88
id.	29,5	32,4	0,91
id.	31,5	34,4	0,91

plus des neuf dixièmes de celle de l'eau de mer qui les entoure. Ce rapport est d'ailleurs sensiblement variable d'un individu à l'autre d'une même espèce.

Cette valeur moyenne 0,91 est notablement différente de l'unité. On ne peut donc pas admettre avec Quinon que le sang de tous les Invertébrés contient autant de chlorure de sodium que l'eau de mer. Cela n'est vrai que pour certains Invertébrés. Les autres, au contraire, qui paraissent plus élevés en organisation, situés plus haut dans la classification, contiennent toujours moins de chlorure de sodium dans leur sang que l'eau de mer.

Il nous reste maintenant à chercher, comme nous avons fait pour les Vertébrés, quelle part revient au chlorure de sodium dans l'établissement de la pression osmotique du sang.

Nous avons vu (page 23) que, lorsque l'on calcule tout le chlore de l'eau de mer en chlorure de sodium, la pression osmotique de cette eau de mer est tout entière attribuable à la quantité de chlorure de sodium ainsi calculée. Nous avons expliqué à quoi cela tenait et nous n'y reviendrons pas maintenant.

D'autre part, le point de congélation du milieu intérieur des Invertébrés marins est identique à celui de l'eau de mer qui les entoure. Nous avons donc les égalités suivantes :

$$\frac{\text{Pression osmotique due au Na Cl du sang}}{\text{Pression osmotique totale du sang}} = \frac{\text{Pression osmotique due au Na Cl du sang}}{\text{Pression osmotique de l'eau de mer.}}$$

Et comme les pressions osmotiques sont proportionnelles aux teneurs en Na Cl, il s'en suit que le dernier membre de cette égalité, et par suite le premier, sont égaux au

rapport : $\frac{\text{Na Cl du sang}}{\text{Na Cl de l'eau de mer}}$, c'est-à-dire le rapport consigné dans la dernière colonne du tableau. Ainsi donc, les chiffres de cette dernière colonne représentent la proportion de pression osmotique du sang attribuable au chlorure de sodium, cette proportion étant calculée comme nous l'avons fait pour les Téléostéens et Sélaciens. Cette proportion est égale à 1 pour les Echinodermes, et les Siponcles et certainement d'autres Invertébrés inférieurs. Au contraire, elle s'abaisse en moyenne à 0,91 pour des Invertébrés supérieurs comme les Crustacés et les Mollusques. Si nous remontons l'échelle animale, ce rapport continue à décroître. Pour les poissons osseux et cartilagineux (1) il est voisin de 0,75. Pour les Mammifères, il n'atteint plus que la valeur 0,66. Enfin, pour l'homme, il est plus faible encore. Ce rapport semble ne pas dépendre du milieu extérieur. Il est sensiblement identique pour les Téléostéens marins et d'eau douce.

En étudiant les Crustacés d'eau douce nous verrons qu'il a la même valeur, 0,91 que pour les Crustacés marins. Nous avons déjà dit qu'il ne fallait pas attribuer à ce rapport une signification trop absolue. Il a seulement une valeur comparative qui suffit à lui donner un intérêt de physiologie comparée.

FRÉDÉRICQ a montré que la présence de matières albuminoïdes dans une solution saline pouvait entraîner son isotonie avec une autre solution plus riche en sels mais exempte d'albumine. FRÉDÉRICQ a constaté en effet que le sang de certains Invertébrés marins contient moins de sels que l'eau de mer et se trouve cependant en équilibre de diffusion avec elle. Les chiffres mêmes de FRÉDÉRICQ montrent que cet équilibre n'est pas toujours absolu, la dialyse contre l'eau de mer pouvant augmenter de 2 % la teneur en sels du sang, comme nous l'avons déjà vu. Cette augmentation de 2 % est faible comparativement à celle que l'on doit attendre. Celle-ci devrait être de 10 % quand le sang ne contient que 91 % des sels de l'eau de mer, cette augmentation devant égaliser la teneur en sels du sang avec celle de l'eau de mer (2). Une telle augmentation de 10 % n'est jamais constatée.

(1) A condition de prendre comme pression osmotique du sang des Sélaciens, sa pression osmotique physiologique.

(2) En effet, le dixième de 91 est 9 et $91 + 9 = 100$.

Pour FRÉDÉRICQ, on doit calculer la concentration des sels, non pas d'après le volume total du liquide, mais seulement d'après le volume de l'eau, c'est-à-dire le volume total moins le volume de l'albumine. C'est cette concentration, ainsi calculée, qui interviendrait dans l'établissement de la pression osmotique.

Or nous avons toujours calculé la teneur en NaCl d'après le volume total du sang, comme on fait toujours dans les analyses chimiques. Voyons maintenant quelle serait la concentration calculée d'après les idées de FRÉDÉRICQ.

Le sang des Crustacés contient au maximum 5 % d'albumine. La densité d'une solution d'albumine à 5 % étant de 1,013 (1) il résulte que 100 cm³ de solution contiennent 101,3 — 5 = 96,3 cm³ d'eau. Par conséquent, les sels que nous pensions répartis dans 100 cm³ d'eau ne le sont, au point de vue de l'osmose, que dans 96,3 cm³. Il en résulte que toutes les teneurs en Na Cl que nous avons déterminées doivent être augmentées dans le rapport de $\frac{100}{96,3}$. Nous obtenons ainsi des concentrations plus fortes, plus voisines de celles de l'eau de mer. Le rapport de la dernière colonne se trouvera donc augmenté, lui aussi, dans la même proportion. Comme il a pour valeur moyenne 0,91, sa nouvelle valeur sera $\frac{0,91 \times 100}{96,3} = 0,95$, nombre sensiblement inférieur à l'unité.

Il semble donc bien que, malgré cette correction inspirée des idées de FRÉDÉRICQ, toute la pression osmotique du sang des Crustacés et, en général des Invertébrés supérieurs, ne soit pas due uniquement au chlorure de sodium, comme cela se produit pour l'eau de mer. Très probablement, des matières organiques, à faibles poids moléculaires, produisent une petite partie de cette pression. Des recherches précises s'imposent dans cette voie.

III. — Influence de la salinité de l'eau de mer sur la concentration du milieu intérieur des Invertébrés marins

Dès 1884, L. FRÉDÉRICQ constata que la teneur en substances minérales du sang des Crustacés était fonction de la salinité de l'eau de mer. Il fit varier du simple au double la proportion des sels du sang de *Carcinus maenas* en les transportant dans de l'eau plus ou moins salée. Nous réservons pour le paragraphe suivant l'étude du *Carcinus maenas*, Crustacé adopté aux changements de salinité.

R. QUINTON entreprend, en 1898, son grand travail sur les animaux aquatiques. Il étudie l'influence de la concentration de l'eau de mer sur celle du milieu intérieur des Invertébrés. Ses expériences consistent à laisser séjourner un certain temps des Invertébrés dans des mélanges d'eau de mer et d'eau douce ou dans de l'eau de mer concentrée.

Il détermine ensuite le chlorure de sodium du milieu intérieur de l'animal et du liquide qui l'entourait. Il trouve des teneurs approximativement les mêmes. Il ne cherche pas quelle peut être la cause des inégalités parfois notables qui existent souvent entre les doses de chlorure de sodium des deux milieux. Il se contente de constater que ces doses sont voisines l'une de l'autre et qu'elles se modifient parallèlement l'une à l'autre.

Une grave reproche que l'on peut faire aux expériences de QUINTON, c'est que les animaux ne restent pas assez longtemps dans l'eau de mer modifiée, parfois moins d'une heure, en général quelques heures, exceptionnellement une journée entière. Il en résulte qu'au moment où l'on retire les animaux, ils ne sont pas toujours en équilibre d'échanges avec le liquide

(1) D'après l'Agenda du chimiste.

qui les baigne. QUINTON ne parle pas de cet équilibre. Cependant, pour que les dosages de Na Cl aient une signification physiologique, il est nécessaire que cet équilibre existe. On peut, en effet, trouver pour la quantité de chlorure de sodium du sang d'un Invertébré plongé dans de l'eau de mer modifiée, toutes les valeurs comprises entre celle qu'elle présente avant que l'on introduise l'animal dans son nouveau milieu et celle qui correspond à l'équilibre avec ce milieu. Il suffira de retirer l'animal au bout d'un temps de séjour plus ou moins long. Toutes ces concentrations transitoires sont sans intérêt.

QUINTON montre que les variations de concentration du milieu intérieur s'accompagnent d'un changement de poids. Celui-ci augmente quand les animaux sont immergés dans des liquides hypotoniques, il diminue si ces liquides sont hypertoniques. Enfin QUINTON démontre que les surfaces d'échanges de l'Invertébré marin sont perméables non seulement à l'eau, mais encore aux sels. La modification de la teneur en Na Cl du milieu résulte à la fois d'un mouvement d'eau et d'un transport de sels. Voici une des expériences, particulièrement probante :

Un certain volume d'eau de mer est additionné d'eau douce et on rétablit sa concentration moléculaire primitive (mesurée au cryoscope) par dissolution d'une quantité convenable de sulfate de magnésie. Ce mélange, tout en étant isotonique avec l'eau de mer initiale, contient moins de Na Cl que celle-ci.

Si on plonge un Invertébré dans ce mélange, aucun transport d'eau ne doit se produire entre son milieu intérieur et ce mélange. C'est ce que montre la constance de poids de l'animal mais, par contre, on trouve que la teneur en chlorure de sodium de son sang a notablement diminué pour devenir très voisine de celle du mélange.

Des expériences de QUINTON, il se dégage que toute modification de la salinité de l'eau de mer entraîne une modification de la concentration du milieu intérieur de l'Invertébré marin, qui devient plus ou moins identique à celle de l'eau de mer. Ceci résulte à la fois d'un passage d'eau et de sels à travers la paroi de l'animal.

L. FRÉDÉRICQ, en 1901, fait des expériences analogues mais en utilisant le cryoscope. Il trouve que le sang de l'Invertébré marin reste isotonique avec l'eau de mer quand on le dilue ou le concentre. Cependant plusieurs chiffres de FRÉDÉRICQ montrent que cette isotonie n'est pas rigoureuse. Des différences de plusieurs centièmes de degré (parfois 10) existent entre les Δ du sang et ceux du milieu extérieur, principalement chez les Crustacés. FRÉDÉRICQ ne s'inquiète pas de ces différences; il constate simplement qu'elles sont d'autant plus grandes que les animaux sont restés moins longtemps dans l'eau de mer modifiée. Il ne s'assure pas si, au moment où les animaux sont retirés, leur milieu intérieur est en équilibre d'échanges avec le milieu extérieur. Comme QUINTON, il constate que les sels (ferrocyanure de K, nitrate de sodium), traversent la paroi de l'Invertébré marin.

GARREY, en 1905, transporte des Invertébrés marins soit dans un mélange à parties égales d'eau de mer et d'eau douce ($\Delta = -1^{\circ}02$), soit dans l'eau douce pure. Il constate, comme ses prédécesseurs, que le point de congélation du milieu intérieur se modifie rapidement pour devenir, dans certains cas, approximativement égal à celui du liquide environnant. Quand ce dernier est particulièrement dilué, la mort survient avant l'égalisation des points de congélation. Il voit en outre que les Invertébrés tolèrent mieux une élévation de la pression osmotique de l'eau de mer que la diminution correspondante. En plaçant un *Limule* dans une position telle que les branchies plongent seules dans le liquide, il constate que la concentration du sang de l'animal se modifie exactement comme si celui-ci était totalement immergé.

Il en conclut que chez les Crustacés les surfaces d'échanges osmotiques sont constituées par les branchies.

De tous les travaux qui précèdent, il résulte que les variations de concentration du milieu intérieur des Invertébrés marins reproduisent sensiblement celle de l'eau de mer. Souvent, quand celle-ci est modifiée trop profondément, les animaux meurent avant qu'une isotonie, même approximative, soit réalisée. Cette tendance à l'isotonie résulte à la fois d'un mouvement d'eau et de sels à travers les surfaces d'échanges. Le reproche général que l'on peut faire à toutes ces recherches c'est que les animaux ne sont pas restés assez longtemps dans leur nouveau milieu, en général seulement quelques heures. Il en résulte que l'on ne peut se prononcer sur la cause des différences qui se manifestent souvent entre les Δ du milieu intérieur et du milieu extérieur. Disparaîtraient-elles si la durée du séjour des animaux était prolongée ou, au contraire, correspondent-elles à un équilibre stable?

En outre, les expérimentateurs précédents n'ont étudié que l'influence d'un très petit nombre de salinités sur la concentration du milieu vital des Invertébrés, en général une ou deux par espèce. Il semble qu'il serait intéressant, au contraire, d'étudier systématiquement l'influence d'un certain nombre de salinités sur le milieu intérieur de quelques Invertébrés marins et de tracer les courbes représentant le point de congélation de ce milieu en fonction de celui du liquide ambiant. On verrait de la sorte si les Invertébrés modifient tous exactement d'une manière identique la concentration de leur sang quand ils sont placés dans la même solution, plus ou moins salée, ou si, au contraire, de petites différences de réaction se manifestent entre ces différents animaux. Jusqu'à présent, en effet, on admet que tous les Invertébrés se comportent d'une façon identique vis-à-vis des variations de salinité du milieu extérieur. Naturellement, il faudrait prolonger beaucoup plus que ne l'ont fait les expérimentateurs précédemment cités la durée du séjour des animaux dans les liquides utilisés.

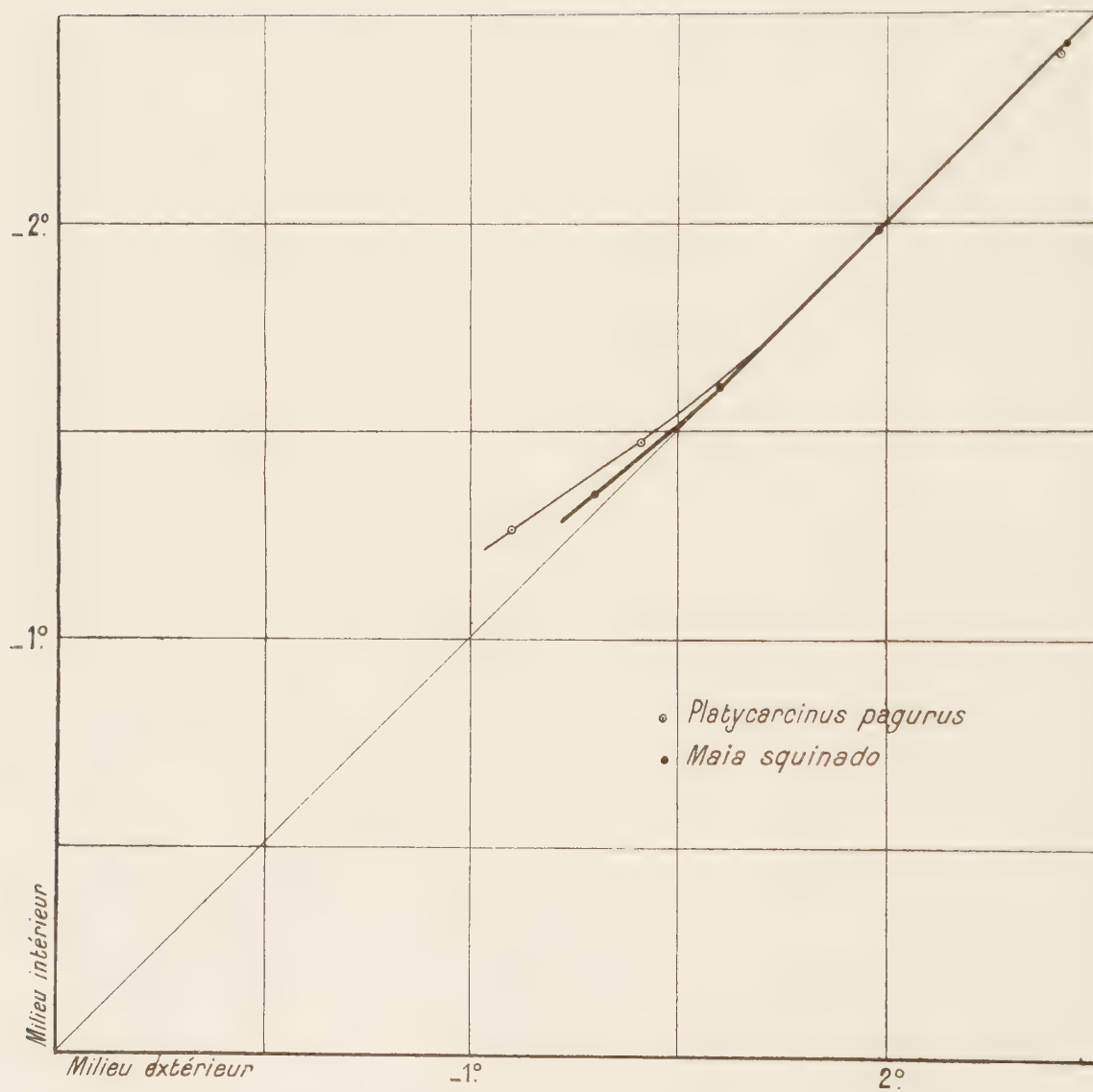
Nous avons entrepris une série de recherches inspirées des remarques précédentes. La durée du séjour des animaux dans leur nouveau milieu extérieur n'a jamais été inférieure à 24 heures et cette durée a souvent été largement dépassée quand nous observions des différences notables entre les points de congélation des deux milieux de l'animal. Toutes les expériences que nous avons réalisées sont des expériences dans lesquelles la salinité de l'eau de mer est modifiée brusquement. Nous allons d'abord indiquer les résultats obtenus avec des Crustacés. Ceux que nous avons étudiés sont les suivants : *Platycarcinus pagurus*, *Maia squinado*, *Palinurus vulgaris*. Pour ce dernier, on a dosé le chlore dans son sang et dans le liquide qui l'entourait, en même temps que l'on déterminait les points de congélation. La durée du séjour a été de 24 heures pour *Maia squinado* et *Palinurus vulgaris*, et de 42 heures pour *Platycarcinus pagurus*.

Il ressort de ces documents que le point de congélation du sang des Crustacés s'égale très exactement avec celui de l'eau de mer quand on augmente la salinité de celle-ci. La courbe représentant le Δ du sang en fonction de celui du milieu extérieur coïncide très exactement avec la bissectrice. En d'autres termes, dans cette région, les Crustacés maintiennent tous leur sang rigoureusement isotonique avec le milieu ambiant (1).

Si maintenant nous diminuons la concentration de l'eau de mer, nous constatons que tout d'abord, les courbes restent confondues avec la bissectrice, mais, la salinité diminuant davantage, celle du *Platycarcinus* et, à un degré moindre, celle de la *Maia*, s'écartent sensi-

(1) A un centième de degré près.

PLATYCARCINUS PAGURUS		MAIA SQUINADO	
Δ SOLUTION	Δ SANG	Δ SOLUTION	Δ SANG
— 2°41	— 2°40	— 2°42	— 2°42
— 1°98	— 1°98	— 1°98	— 1°98
— 1°41	— 1°47	— 1°60	— 1°60
— 1°10	— 1°27	— 1°30	— 1°35



Point de congélation du sang de *Platycarcinus pagurus* et de *Maia squinado* en fonction de celui du milieu extérieur.

blement de cette bissectrice. Le sang de ces animaux, pour ces salinités relativement faibles de l'eau de mer, n'est plus rigoureusement isotonique avec celle-ci, mais légèrement hypertonique. Cette hypertonicité est relativement forte chez *Platycarcinus pagurus* qui a cependant séjourné 42 heures dans ces eaux de mer diluées, séjour suffisamment prolongé pour que les échanges soient terminés entre le milieu extérieur et l'hémolymphe de l'animal. Il semble donc bien que l'état d'équilibre entre les deux milieux de ces Crustacés ne corresponde pas à l'isotonie mais, au contraire, à une certaine hypertonicité du sang, d'autant plus grande d'ailleurs que le milieu ambiant est lui-même plus dilué. Il serait, certes, intéressant de voir ce que devient la concentration du sang pour des salinités plus faibles encore de l'eau de mer. Malheureusement, des dilutions plus grandes que celles que nous avons utilisées, entraînent une mort rapide des animaux et l'expérience ne prouve rien sur ce qu'est l'équilibre entre le sang et le milieu extérieur puisque l'animal succombe avant que cet équilibre ne soit établi.

On constate que, si dans la zone qui correspond à une augmentation de la salinité de l'eau de mer, les Crustacés modifient tous d'une façon identique la concentration de leur sang, il n'en est pas de même dans la zone des dilutions. Toutes les courbes ne sont pas confondues. La courbe de *Palinurus vulgaris* coïncide avec la bissectrice (1), celle de la *Maia squinado* s'en écarte un peu et celle du *Platycarcinus pagurus* encore davantage.

PALINURUS VULGARIS			
Δ SOLUTION	Δ SANG	Na Cl SOLUTION	Na Cl SANG
2°57	— 2°58	42,4	37,4
2°15	— 2°15	35,0	30,5
2°00	— 2°01	»	»
1°85	— 1°84	30,0	28,7
1°62	— 1°62	25,9	20,7
1°49	— 1°51	24,5	18,7

Examinons plus en détail les documents concernant *Palinurus vulgaris*. Nous constatons que le milieu intérieur de celle-ci est, aux faibles erreurs expérimentales près, toujours isotonique avec le liquide ambiant. Pour ce Crustacé, nous avons, en plus de la détermination du Δ, dosé le chlorure de sodium dans ses deux milieux, intérieur et extérieur. La comparaison des chiffres des deux dernières colonnes du tableau concernant la Langouste, montre que le sang de l'animal contient toujours moins de Na Cl que le milieu extérieur, que celui-ci soit constitué par de l'eau de mer normale, diluée ou sursalée. Par suite, le rapport de la quantité de chlorure de sodium du sang à celle du milieu extérieur est toujours inférieur à l'unité, non seulement chez l'animal normal, comme nous le savions déjà, mais aussi pour les individus transportés dans de l'eau de mer dont on a modifié la concentration.

Il est probable qu'il en est de même pour tous les Invertébrés dont le rapport $\frac{\text{Na Cl du sang}}{\text{Na Cl du milieu extérieur}}$ est inférieur à l'unité, c'est-à-dire pour les Invertébrés supérieurs (Crustacés, Céphalopodes, etc.). Nous avons vérifié, en effet, que ce rapport se maintient inférieur à l'unité chez un autre Crustacé, *Portunus puber*, que l'on transporte dans une eau de mer diluée ou concentrée.

(1) Au moins dans la zone de salinités étudiées. Il est probable qu'elle s'en écarterait si l'on pouvait faire agir sur l'animal des concentrations encore plus faibles.

Δ SOLUTION	Δ SANG	Na Cl SOLUTION	Na Cl SANG
— 2°58	— 2°60	12,5	38,4
— 1°49	— 1°54	24,6	20,9

La différence de teneur en Na Cl des deux milieux est toujours très sensible. Nous n'avons pas fait figurer ces expériences au tableau général car la durée du séjour des *Portunus* n'a été que de 17 heures et que, peut-être, au bout de ce temps, l'équilibre n'était pas rigoureusement réalisé entre les deux milieux.

Des expériences analogues faites sur la Seiche montrent aussi une plus faible teneur en Na Cl du sang de l'animal, que l'on transporte celui-ci dans de l'eau de mer diluée ou, au contraire, sursalée.

Il semble donc bien que, chez tous les Invertébrés supérieurs, le sang soit toujours moins riche en chlorure de sodium que le milieu extérieur. QUINTON, au contraire, comme conclusion de ses expériences dont la technique était moins rigoureuse que celle des nôtres, admettait que les deux milieux des Invertébrés marins contenaient toujours la même quantité de chlore.

Nous allons maintenant donner des résultats d'expériences concernant les Invertébrés inférieurs, ceux dont nous avons montré que le sang contenait, à l'état normal, la même dose de chlorure de sodium que l'eau de mer. Nous avons principalement en vue de voir si cette égalité se maintenait quand on modifiait la salinité de l'eau de mer.

La durée du séjour des animaux était comprise entre 24 et 28 heures.

ESPÈCES	POINT DE CONGÉLATION		TENEUR EN Na Cl	
	DE L'EAU DE MER	DU SANG	DE L'EAU DE MER	DU SANG
<i>Asterias rubens.</i>	— 1°41	— 1°41	23,8	23,8
<i>Sipunculus nudus.</i>	— 1°55	— 1°56	25,2	25,4
<i>Arenicola piscatorum.</i>	— 1°46	— 1°46	24,0	24,0

On voit que, chez ces Invertébrés le milieu intérieur est non seulement rigoureusement isotonique avec le liquide environnant, mais qu'il contient exactement la même dose de chlorure de sodium, au moins dans la zone de salinité étudiée.

Done, chez les Invertébrés inférieurs, l'équilibre d'échange correspond à l'isotonie des deux milieux de l'animal.

L'ensemble de cette étude montre que, contrairement aux notions admises actuellement, tous les Invertébrés marins ne se comportent pas d'une façon identique vis-à-vis des variations de salinité de l'eau de mer. Certains, les Invertébrés supérieurs (comme les Crustacés et les Céphalopodes), contiennent toujours moins de Na Cl dans leur sang que le liquide qui les entoure. Les autres, au contraire, en contiennent exactement autant. Ceci est vrai, non seulement quand l'animal est en contact avec son milieu normal mais, aussi, quand on le transporte dans de l'eau de mer diluée ou concentrée. Quand on augmente la salinité de l'eau de mer, tous les Invertébrés modifient la concentration de leur milieu intérieur de manière qu'elle devienne rigoureusement identique à la nouvelle concentration de l'eau de mer.

Si, au contraire, on dessale cette eau de mer, certains Invertébrés maintiennent leur milieu intérieur isotonique avec le liquide qui les baigne. Chez les autres, au contraire, à partir d'une certaine dilution, d'ailleurs variable d'une espèce à une autre, l'équilibre d'échanges entre les deux milieux de l'animal ne correspond plus à l'isotonie, mais à une légère hypertonicité du sang, qui va en s'accroissant au fur et à mesure que la salinité de l'eau de mer diminue.

Il serait très intéressant de reprendre toutes ces expériences en diminuant progressivement la salinité de l'eau de mer afin d'arriver à faire vivre les Invertébrés marins dans un milieu de pression osmotique plus faible que celle qui caractérisait les mélanges d'eau de mer et d'eau douce que nous avons employés. Nous n'avons pas encore réalisé de telles expériences d'adaptation lente.

IV. — Cas spécial du « *Carcinus mœnas* » Crustacé adapté aux changements de salinité

Dans le paragraphe précédent, nous avons systématiquement omis de parler du *Carcinus mœnas*. Nous allons l'étudier maintenant.

Ce Crabe, le plus commun de nos côtes, a été étudié en même temps que les autres Crustacés par les physiologistes qui se sont occupés des phénomènes osmotiques chez les Invertébrés marins.

L. FRÉDÉRICQ, en 1884, compara la teneur totale en sels du sang de Crabes pêchés soit dans l'Atlantique, soit dans la Méditerranée, soit dans l'eau saumâtre des bouches de l'Escaut. Il constata que cette teneur en sels était fonction de la concentration du milieu dans lequel vivaient les Crabes. Il conclut en disant que le sang des *Carcinus* vivant dans la mer est moins riche en sels que celle-ci et, qu'au contraire, celui des individus pêchés dans l'eau saumâtre contient plus de sels que cette eau.

QUINTON, au cours de son étude sur les Invertébrés marins expérimente sur *Carcinus mœnas* et ne fait aucune remarque spéciale à son sujet. Toutes les conclusions qu'il tire de ses nombreuses expériences s'appliquent à tous les Invertébrés, sans que le *Carcinus* soit l'objet d'une mention particulière.

L. FRÉDÉRICQ reprend, en 1901, ses travaux sur les animaux aquatiques et s'occupe du *Carcinus mœnas*. Utilisant le cryoscope, il constate que si certains Invertébrés marins, comme *Maia verrucosa* s'adaptent avec rapidité aux variations de concentration de l'eau de mer, il n'en est pas de même du *Carcinus mœnas*. Après avoir laissé pendant 3 jours des *Carcinus* dans de l'eau de mer diluée, il trouve que le sang de ces Crabes est encore assez éloigné de l'isotonie avec le milieu extérieur (Δ sang = — 1°68, Δ eau de mer — 1°19). Il en conclut que l'équilibre s'établit fort lentement, et pour FRÉDÉRICQ, cet équilibre consiste en l'isotonie des deux milieux de l'animal. Il déduit de cette lenteur d'échanges que les surfaces, qui sont le siège de ces échanges entre l'organisme et le milieu extérieur, sont peu perméables tant à l'eau qu'aux sels et il montre ensuite expérimentalement que les sels que l'on ajoute à l'eau de mer (ferrocyanure et nitrate de sodium) ne passent que fort lentement dans le sang du *Carcinus*. Il annonce, à titre d'hypothèse, qu'il est fort possible que chez ce Crabe la branchie soit seulement perméable à l'eau, l'intestin étant à la fois perméable à l'eau et aux sels.

A aucun endroit du travail de FRÉDÉRICQ on ne trouve l'indication que le *Carcinus mœnas* est adapté aux changements de salinité. Il ne fait aucun rapprochement entre ce fait et les particularités physiologiques qu'il découvre chez le Crabe.

Nous venons de voir dans le paragraphe précédent que le sang de certains Crustacés (*Platycarcinus pagurus* en particulier) se dilue un peu moins que l'eau de mer quand on abaisse la salinité de celle-ci et que l'écart entre la concentration moléculaire du sang et celle du

milieu extérieur est d'autant plus grand que la dilution de celui-ci est plus forte. Nous avons pensé que chez le *Carcinus maenas*, cet écart devait être beaucoup plus considérable. Ainsi on s'expliquerait que, le sang se diluant beaucoup moins que l'eau de mer, l'animal résiste mieux à la dilution du milieu ambiant qu'un autre Crustacé ne présentant pas cette particularité physiologique, ou la présentant à un degré moindre. C'est ce que nous avons vérifié.

Les expériences consistent à placer des *Carcinus* dans des mélanges d'eau de mer et d'eau douce et à les y laisser des temps plus ou moins longs, afin de voir comment varie la concentration du sang en fonction de la salinité extérieure, cette concentration étant mesurée lorsque l'on est sûr que l'équilibre d'échanges est réalisé entre le Crabe et son milieu extérieur.

Des Crabes provenant tous du même lot, n'ayant jamais été conservés à sec, sont placés, à un moment donné, dans une série de mélanges d'eau de mer et d'eau douce, ou dans de l'eau de mer additionnée de sel marin. Au bout de 26 heures puis 7 jours et enfin 15 jours, on prélève quelques-uns des Crabes et on détermine le point cryoscopique de leur sang. En général, un seul individu fournit assez de liquide pour une cryoscopie. Parfois cependant, on a été obligé de réunir le sang récolté sur deux animaux différents. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant.

POINT DE CONGÉLATION DU MILIEU EXTÉRIEUR	POINT DE CONGÉLATION DU SANG APRÈS UN SÉJOUR DE		
	26 HEURES	7 JOURS	15 JOURS
— 2°88	— 2°86	»	»
	— 2°87	»	»
— 2°41	— 2°37	»	»
	— 1°95	»	»
— 1°98	— 1°99	»	»
	— 1°75	{ — 1°77	— 1°75
— 1°39	»	{ — 1°81	»
	— 1°67	{ — 1°51	»
— 1°10	»	{ — 1°61	»
	— 1°56	»	»
	— 1°34	»	»
— 0°78	— 1°38	»	»
	— 1°58	»	»
— 0°66	— 1°31	»	»
	— 1°30	{ — 1°04	{ — 1°35
— 0°63	»	{ — 1°26	{ — 1°24
	»	»	{ — 1°14
	— 1°34	»	»
— 0°35	— 1°40	»	»
	— 1°18	»	»
— 0°17	— 1°27	»	»

Interprétons maintenant ces résultats.

Si on augmente la salinité de l'eau de mer, le milieu intérieur du *Carcinus* se modifie de manière à rester isotonique avec le liquide qui l'entoure. Dans cette zone de salinité, notre Crabe se comporte donc comme les autres Crustacés, et d'une manière générale, comme tous

les Invertébrés marins. La courbe représentant la concentration moléculaire du sang du *Carcinus mænas* en fonction de celle du milieu extérieur reste confondue avec la bissectrice.



Point de congélation du sang de *Carcinus mænas* en fonction de celui du milieu extérieur.

Diminuons maintenant la salinité de l'eau de mer. Nous constatons que la courbe précédente s'écarte aussitôt de cette bissectrice. Le sang n'est plus isotonique mais très notablement hypertonique avec le liquide environnant. Cette différence de concentration des deux milieux de l'animal qui était à peine esquissée chez *Platycarcinus* et *Maia*, est ici très notable et elle correspond bien à l'équilibre osmotique des deux milieux puisqu'elle se maintient très sensiblement la même après une durée de séjour de l'animal de 7 jours dans l'eau de mer diluée et même de 15 jours. Contrairement à ce que pense FRÉDÉRICQ, cette différence de concentration est stable. L'équilibre d'échange entre le sang et l'eau de mer diluée est à peu

près atteint au bout de 24 heures. Une prolongation du séjour de l'animal n'amène pas l'isotonie entre les deux liquides. Pour ce Crustacé, la notion classique qui veut que le milieu intérieur de l'Invertébré marin reste isotonique avec le liquide qui le baigne est manifestement en défaut. Elle n'était déjà qu'approximative pour les Invertébrés supérieurs (Crustacés par exemple) placés dans une eau de mer assez diluée.

Nous constatons des différences individuelles assez notables entre les points de congélation du sang de Crabes ayant séjourné le même temps dans la même solution. Ainsi, pour le sang des *Carcinus* ayant tous séjourné 26 heures dans un mélange de $\Delta = -0^{\circ}78$, le point de congélation oscille de $-1^{\circ}58$ à $-1^{\circ}34$. On pourrait penser que ces écarts sont peut être dus au fait que l'équilibre osmotique ne s'établit pas avec la même vitesse chez les divers individus et que, chez tous les individus les échanges ne sont pas terminés au bout de ce temps. Mais cette objection est sans valeur puisque des écarts du même ordre de grandeur se manifestent chez les Crabes ayant vécu 15 jours dans le mélange de $\Delta = -0^{\circ}63$. Le point de congélation du sang est alors compris entre $-1^{\circ}35$ et $-1^{\circ}14$. Nous ignorons donc la cause de ces différences individuelles.

Les *Carcinus maenas* survivent très longtemps quand on les transporte dans l'eau de mer diluée. Tant que le point de congélation de celle-ci est inférieur à $-0^{\circ}60$ ils paraissent pouvoir y vivre indéfiniment. Au bout de plus de trois semaines de séjour, ils avaient la vigueur et l'apparence normales. Par contre, dans les deux mélanges les plus dilués que nous ayons utilisés, la survie s'est montrée plus courte. Dans celui dont le Δ était de $-0^{\circ}35$, les Crabes sont morts entre 24 et 48 heures et, dans celui de $\Delta = -0^{\circ}17$, sur 6 animaux que l'on y avait introduits deux seulement ont survécu plus de 20 heures. Il s'en suit que l'on ne peut vérifier, par une prolongation de la durée du séjour si, au bout de 26 heures, les échanges sont terminés entre le Crabe et le liquide qui l'environne. Il n'est pas prouvé que cette durée, suffisante lorsque le milieu extérieur est plus concentré, le soit encore lorsqu'il est aussi dilué. L'examen du graphique montre que les points correspondants à ces dilutions sont situés sensiblement au-dessus du prolongement de la courbe passant par les autres points. Cela indique que le milieu intérieur de ces Crabes est plus concentré qu'il ne devrait l'être si les échanges osmotiques avaient été terminés au moment où les animaux ont été saignés. Un cas analogue a été observé avec les Roussettes entourées d'eau douce ou d'un liquide de très faible salinité.

Il serait intéressant de pouvoir mesurer le point cryoscopique du sang de Crabes en équilibre d'échanges avec l'eau douce. Malheureusement, introduits dans ce milieu, ces Crustacés succombent en quelques heures. On pourrait alors comparer ce Δ avec celui des crustacés voisins des *Carcinus* dans la classification, mais vivant habituellement dans l'eau douce, comme les Téphuses. L'expérience n'est probablement pas impossible à réaliser. En dessalant très progressivement le milieu extérieur de Crabes vivant depuis longtemps dans un mélange de $\Delta = -0^{\circ}60$, il est vraisemblable que l'on pourrait amener ces animaux à vivre quelque temps dans de l'eau douce. Peut-être aussi pourrait-on utiliser dans ce but des Crabes pêchés dans l'eau saumâtre des estuaires.

Par prolongement de la courbe que nous avons tracée, il apparaît que le point de congélation du sang de *Carcinus maenas* vivant dans l'eau douce, doit être voisin de -1° . Nous espérons pouvoir vérifier expérimentalement ce point.

Comme conclusion à cette étude sur le *Carcinus maenas*, nous dirons que si ce Crabe se comporte comme tous les autres Invertébrés marins quand on augmente la salinité de l'eau de mer qui le baigne, au contraire, il s'en différencie quand on dilue cette eau. Son sang reste

toujours très notablement hypertonique vis-à-vis du milieu extérieur. Cette particularité physiologique n'est probablement pas sans rapport avec la propriété que possède le *Carcinus mænas* d'être adapté aux changements de salinité.

CHAPITRE VIII

Étude de l'Invertébré d'eau douce

I. — Généralités

Un certain nombre d'Invertébrés d'eau douce ont, comme milieu vital, l'eau douce elle-même. Milieu intérieur et milieu extérieur se confondent pour ces animaux.

C'est le cas de tous les Protozoaires d'eau douce, organismes composés d'une seule cellule, d'une famille de Spongiaires, les Spongilles, quelques genres d'Hydrozoaires : *Hydra*, *Cordylophora*, *Halmomyces*, *Limmocodium* (ainsi que sa méduse *Craspedacustes*). Les Spongiaires et les Hydrozoaires étant dépourvus de milieu intérieur clos, toutes leurs cellules sont baignées par le milieu extérieur qui pénètre l'organisme entier, c'est-à-dire par l'eau douce.

Les autres Invertébrés d'eau douce possèdent un milieu intérieur qui leur est propre et sans communication anatomique avec le milieu extérieur. Ce sont de ces seuls Invertébrés que nous allons nous occuper.

II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium de sang des Invertébrés d'eau douce

Le milieu intérieur des Invertébrés d'eau douce n'a été l'objet, jusqu'à ce jour, que d'un très petit nombre de recherches. Cela tient sans doute aux difficultés qu'elles présentent en raison de la petitesse de ces animaux. En fait, seuls l'Anodonte et l'Écrevisse ont été assez bien étudiées. Ces deux animaux constituent d'ailleurs les plus gros Invertébrés aquatiques de nos cours d'eau et c'est à cause de leur taille qu'ils ont été choisis par les physiologistes.

WITTING, en 1858 publie l'analyse du sang de l'Écrevisse, mais cette analyse est critiquable, surtout en ce qui concerne les métaux alcalins dont les méthodes de dosage étaient très peu précises à cette époque.

HALLIBURTON trouve que ce sang contient 11,3 g. de sels solubles par litre.

L. FRÉDÉRICQ, en 1899, indique les résultats d'un travail qu'il a entrepris sur le milieu intérieur de ce Crustacé. Il détermine à la fois le point de congélation du sang et sa teneur en matières minérales solubles. Il examine 12 lots différents d'Écrevisses. Les animaux des deux derniers lots ont été soumis à un jeûne préalable de trois mois. Les autres ont seulement été conservés quelques jours sans nourriture. Il constate que ce jeûne prolongé est sans influence sur la composition du sang. Voici ses résultats :

La température de congélation de l'hémolymph de l'Écrevisse oscille entre $-0^{\circ}765$ et $-0^{\circ}83$ et la quantité de sels solubles contenus dans cette hémolymph est comprise entre 11 et 12 g. par litre. L'eau dans laquelle les Écrevisses étaient conservées se congelait entre $-0^{\circ}02$ et $-0^{\circ}03$. Après avoir constaté la teneur si élevée en sels du milieu intérieur de ce Crustacé, comparativement à celle de l'eau douce, FRÉDÉRICQ se demande par quel mécanisme

ces sels peuvent être retenus à l'intérieur de l'Écrevisse. Nous avons vu, en étudiant les Invertébrés marins supérieurs, que le sang de ceux-ci était en équilibre de diffusion (1) avec l'eau de mer, bien que les richesses en substances salines de ces deux liquides soient différentes. On peut se demander si un phénomène analogue n'intervient pas dans le cas de l'Écrevisse. FRÉDÉRICQ introduit dans deux dialyseurs en parchemin deux échantillons de sang normal d'Écrevisse se congelant à $-0^{\circ}80$. Il plonge les deux dialyseurs dans l'eau douce. L'équilibre s'établit rapidement. Après 13 heures les deux échantillons de sang ne se congèlent plus qu'à $-0^{\circ}05$ et $-0^{\circ}075$. Après deux jours l'équilibre complet est atteint. Le point de congélation des liquides placés à l'intérieur et à l'extérieur du dialyseur est $-0^{\circ}025$. Le rétention des sels ne peut donc s'expliquer par une affinité de ceux-ci avec les matières albuminoïdes de l'hémolymphe que la paroi branchiale retenait déjà. La façon dont l'Écrevisse réalise ce défaut d'équilibre entre la concentration de son sang et celle de l'eau douce est inexplicable actuellement. On aurait d'ailleurs pu faire une remarque analogue à propos des Téléostéens.

QUINTON, vers la même époque, dose le chlore contenu dans le sang de l'Écrevisse et détermine son point de congélation. Un lot de 13 Écrevisses lui donne comme Δ de l'hémolymphe $-0^{\circ}77$, comme teneur en Na Cl 12,16 g. et comme matières organiques 41,7 g. par litre. D'autres individus lui fournissent pour la teneur en chlorure de sodium des nombres compris entre 10,5 et 12,28.

Toutes ces déterminations sont en bon accord avec celles de FRÉDÉRICQ.

Le milieu intérieur des Anodontes a été l'objet de recherches de la part de QUINTON. Ayant voulu y doser les chlorures par la méthode de MOHR, il constata qu'une seule goutte de solution normale décime de nitrate d'argent suffisait pour déterminer le virage. Il en conclut que la teneur en chlorure de sodium est très faible, analogue à celle de l'eau douce. Il n'indique aucun chiffre.

CALUGAREANU mesure la pression osmotique et la conductibilité électrique du sang de l'Anodonte et les compare à celles de l'eau douce. Il trouve ainsi :

$$\begin{aligned}\Delta \text{ sang} &= -0^{\circ}115 & (2) K_{25}^{\text{sang}} &= 10^{-4} \times 33,77. \\ \Delta \text{ eau douce} &= -0^{\circ}015 & K_{25}^{\text{eau douce}} &= 10^{-4} \times 4,303.\end{aligned}$$

Il se demande comment l'Anodonte maintient constante la concentration de son sang et réalise quelques expériences en vue de résoudre cette question. Il constate d'abord que l'inanition prolongée (80 jours) a pour but de diminuer notablement la concentration du sang. Le Δ passe de $-0^{\circ}11$ à $-0^{\circ}07$. La conductibilité subit une baisse analogue, ainsi que tous les composants du sang (matières organiques, cendres). Il pense que, normalement, les cristalloïdes du sang diffusent dans le milieu extérieur mais sont remplacés par ceux qui s'absorbent dans l'intestin. Dans l'inanition il n'y a pas absorption digestive et les pertes ne sont plus compensées. CALUGAREANU pense que cette absorption aurait un rôle marqué dans le maintien de la pression osmotique du sang.

Dernièrement, DAMBOVICEANU a déterminé quelques caractères physicochimiques du sang de l'Anodonte. Il trouve que le point de congélation est de $-0^{\circ}11$, identique à celui indiqué par le physiologiste précédent. La quantité de cendres est de 1,36 g. par litre, celle des substances organiques de 1,27 g.

Voici exposées les recherches concernant l'Écrevisse et l'Anodonte. QUINTON, après avoir étudié ces deux Invertébrés pensa qu'il serait intéressant d'étendre ces recherches à d'autres espèces, mais, dit-il, « La difficulté d'expérimentation sur des animaux de taille aussi réduite

(1) Sensiblement.

(2) K_{25} désigne la conductibilité électrique mesurée à la température de 25° .

que les Invertébrés d'eau douce et aériens ne m'a pas permis jusqu'ici de pousser beaucoup plus loin des expériences les concernant. C'est une lacune à combler.» Cependant il parvint à extraire assez de sang de deux autres Invertébrés : Sangsue et Ver de l'étang de Cazeau, pour pouvoir faire un dosage de chlorure de sodium. Voici ses résultats, le Na Cl étant exprimé en g. par litre de sang.

Hirudo officinalis, à jeun depuis plusieurs mois : 2,92 g. Na Cl.

Allolobophora : 2,7 et 2,77.

Deux Invertébrés aériens, mais vivant dans l'eau douce, l'Hydrophyle et le Dytisque furent également l'objet de ses déterminations. Bien que ce ne soit pas des animaux franchement aquatiques, nous indiquons cependant la teneur en Na Cl de leur sang car nous avons trop peu de documents sur les Invertébrés aquatiques.

Hydrophilus piceus de 2,98 à 3,39.

Dytiscus marginalis de 5,46 à 5,85.

De tous ces travaux sur le milieu intérieur des Invertébrés d'eau douce, il se dégage que celui-ci n'est pas isotonique avec le milieu extérieur, comme cela se produit pour les Invertébrés marins. La différence de concentration des deux milieux, relativement faible chez certaines espèces, comme l'Anodonte (1), peut, au contraire, devenir très notable chez l'Écrevisse où elle atteint — 0°80. Notons que chez le Téléostéen, elle est plus faible que chez ce Crustacé puisqu'elle n'est que de — 0°50 en moyenne.

Comme on le constate en lisant l'exposé précédent, la pression osmotique du sang des Invertébrés d'eau douce n'a été mesurée que sur deux espèces (Écrevisse et Anodonte) et la teneur en chlorure de sodium sur quatre, si l'on excepte les deux Insectes aquatiques examinés par QUINTON. Il serait très intéressant, comme le signale QUINTON lui-même, d'étendre ces recherches à d'autres espèces. Nous avons vu, par exemple, que le sang de l'Écrevisse possède une concentration remarquablement élevée par rapport à celle de l'eau douce. On peut se demander si cette propriété est commune à tous les Crustacés vivant dans le même milieu. Il n'est guère possible, pour résoudre cette question d'utiliser des Crustacés de notre pays. On ne peut, par exemple, songer à extraire du sang d'un *Gammarus*. Ayant appris qu'il existait en Italie des Crabes d'eau douce, les Telphuses, nous avons pu effectuer sur ces Crustacés un certain nombre de déterminations cryoscopiques et chimiques. Ces animaux sont d'une dimension telle qu'un seul individu fournit facilement trois à quatre centimètres cubes de sang, quantité suffisante pour une mesure précise de la température de congélation et de la teneur en chlorure de sodium.

Les Telphuses sur lesquelles nous avons expérimenté provenaient des environs de Rome. Elles nous étaient expédiées à sec, entourées d'herbes humides, soit jusqu'à Monaco, soit jusqu'à Paris. Dès leur réception on les remplaçait dans de l'eau douce courante et on ne les utilisait qu'après un séjour minimum d'une semaine dans ce liquide. Lorsque ce séjour avait une plus longue durée, les Telphuses étaient nourries. Elles étaient toujours très vigoureuses au moment des expériences.

Nous avons vu que QUINTON n'avait trouvé qu'une quantité très faible de chlore dans le sang de l'Anodonte. Ce résultat est surprenant quand on le compare au point de congélation et à la conductibilité électrique de ce même sang déterminés par CALUGAREANU. D'après ce

(1) D'un travail de FRÉDÉRICQ sur le point cryoscopique des *tissus* d'Invertébrés d'eau douce, on peut conclure que le Δ du milieu intérieur de la Paludine, de la Lymnée (*Lymnea stagnalis*) et de la Mulette des peintres (*Unio pictorum*) est voisin de celui de l'Anodonte. Nous n'avons pas cité plus haut ce travail de FRÉDÉRICQ puisqu'il concerne les tissus et non le sang lui-même.

physiologiste, la valeur de ces caractéristiques physico-chimiques est environ huit fois plus grande pour le sang que pour l'eau douce.

QUINTON, au contraire, trouve des doses de chlorure de sodium du même ordre de grandeur pour ces deux milieux. Il nous a paru intéressant de déterminer, par notre méthode, la quantité de chlore contenue dans le sang de l'Anodonte et de la comparer à celle de l'eau douce dans laquelle vit l'animal.

Enfin, nous avons voulu savoir quelle proportion de la concentration moléculaire du sang de l'Écrevisse était attribuable au chlorure de sodium, afin de voir si cette proportion était la même pour les Crustacés d'eau douce et les Crustacés marins. Nous avons donc fait quelques déterminations cryoscopiques sur le sang de l'Écrevisse en y dosant simultanément le chlorure de sodium.

Le tableau ci-dessous indique tous les résultats que nous avons obtenus sur les trois Invertébrés d'eau douce que nous avons étudiés. Nous avons calculé la part qui revient au chlorure de sodium dans l'établissement de la pression osmotique du sang.

ESPÈCES	Δ DU SANG	TENEUR EN Na Cl DU SANG (en grammes par litre)	Δ Dû AU Na Cl	PRESSION OSMOTIQUE DUE AU Na Cl
				PRESSION OSMOTIQUE TOTALE
Telpause	— 1°16	17,5	— 1°08	0,93
	— 1°15	17,8	— 1°10	0,95
	— 1°18	17,3	— 1°07	0,91
	— 1°21	18,0	— 1°11	0,92
Moyenne	— 1°17	17,6		0,93
Écrevisse	— 0°78	11,4	— 0°71	0,91
	— 0°80	11,7	— 0°725	0,90
	— 0°80	11,4	— 0°71	0,89
	— 0°81	12,1	— 0°75	0,92
	— 0°82	11,8	— 0°73	0,89
Moyenne	— 0°80	11,7		0,91
Anodonte	— 0°10			
	— 0°10	1 0,73		

De ces déterminations il résulte qu'au point de vue de la concentration moléculaire de son sang, la Telpause se comporte comme l'Écrevisse. Elle possède un milieu intérieur beaucoup plus concentré que l'eau douce qui l'entoure. Alors que celle-ci se congèle à — 0°02, le sang de la Telpause ne le fait qu'à — 1°17. Ce point cryoscopique est encore plus bas que celui de l'Écrevisse — 0°80. Nous constatons donc sur la Telpause ce que l'on savait déjà à propos de l'Écrevisse, à savoir que les surfaces d'échanges maintiennent pendant toute la vie de l'animal une très forte dénivellation de pression osmotique entre le milieu intérieur et le milieu ambiant. A l'état normal, le sang des Crustacés marins est isotonique avec l'eau de mer. Au contraire, celui des Crustacés d'eau douce est très hypertonique avec l'eau douce. Jusqu'à présent, cette dernière conclusion résultait de déterminations faites sur le seul Crustacé d'eau douce étudié, l'Écrevisse. Nos expériences sur les Telpauses confirment cette conclusion et lui donnent une base plus large.

Le tableau nous montre que la teneur en chlorure de sodium du sang des Crustacés d'eau douce est très élevée. On le savait déjà pour l'Ecrevisse à la suite des recherches de QUINTON. Nos chiffres sont en bon accord avec les siens pour cet animal. Nous voyons que la Telpuse possède plus de Na Cl dans son sang que l'Ecrevisse, mais si nous calculons quelle part revient au chlorure de sodium dans l'établissement de la concentration moléculaire totale, nous trouvons qu'elle est la même pour le sang de Telpuse et pour le sang de l'Ecrevisse : 0,93 et 0,91. Remarquons qu'en étudiant les Crustacés marins nous avons justement trouvé le même nombre pour la proportion de concentration totale du sang due au chlorure de sodium. Ceci montre que, chez tous les Crustacés, tant marins que d'eau douce, à peu près les 9/10 de la concentration moléculaire totale du sang sont attribuables au chlorure de sodium. La différence d'habitat des Crustacés n'entraîne qu'une variation de la teneur en eau du sang. La proportion relative des autres éléments, en particulier du Na Cl est sensiblement la même. Nous avons déjà fait une remarque analogue en étudiant les poissons osseux.

Dans le chapitre sur les Invertébrés marins, nous avons vu que, d'après les idées de FRÉDÉRICQ, la concentration moléculaire qui détermine le point cryoscopique du liquide n'est pas celle que l'on calcule en supposant les substances dissoutes réparties dans le volume total du liquide, mais seulement dans le volume de l'eau. Voyons comment les concentrations précédemment calculées pour le Na Cl du sang, sont modifiées quand on applique les idées de L. FRÉDÉRICQ. Nous avons trouvé que le sang d'Ecrevisse contenait à peu près toujours la même dose de substances organiques (1), 5 %, teneur identique à celle des Crustacés marins. La correction à faire subir aux concentrations calculées plus haut pour obtenir les concentrations osmotiquement actives est donc la même que celle qui a été faite à propos des Crustacés marins. Nous avons vu qu'il fallait augmenter toutes les concentrations dans le rapport de $\frac{100}{96,3}$. De même la proportion de pression osmotique due au Na Cl doit être majorée dans le même rapport. Nous l'avons trouvée être en moyenne de 0,91. En appliquant les idées de L. FRÉDÉRICQ elle devient $\frac{0,91 \times 100}{96,3} = 0,95$, comme pour les Crustacés marins. Pas plus que pour ceux-ci, on ne peut attribuer toute la concentration moléculaire de leur sang au chlorure de sodium. Quelque soit la façon de calculer la teneur en cette substance on aboutit à des résultats identiques pour le sang des Crustacés marins et ceux d'eau douce, en ce qui concerne le rôle du Na Cl dans l'établissement de cette concentration moléculaire. Examinons maintenant les résultats de nos déterminations sur le sang de l'Anodonte. Il ressort que, contrairement aux conclusions de QUINTON, ce sang contient une quantité faible mais appréciable de chlorure de sodium, de l'ordre de 1 g. par litre. Cette teneur est bien supérieure à celle de l'eau douce dans laquelle ces mollusques étaient conservés. Nous avons trouvé en effet que celle-ci ne contenait que 0,0157 g. de Na Cl par litre. Il s'en suit que le sang de l'Anodonte est au moins 50 fois plus riche en cette substance que le milieu extérieur de l'animal. Peut-être le sang recueilli par QUINTON était-il fortement mélangé d'eau douce. Le nôtre devait être sensiblement pur, car voici notre manière de le prélever : On choisit une Anodonte dont les valves sont entrebâillées et on introduit entre elles un petit coin de bois. On écarte davantage les valves, on laisse égoutter l'eau interposée et on achève d'éliminer cette eau en introduisant du papier filtre entre les valves de l'animal. On ouvre ensuite complètement la coquille en incisant le muscle antérieur. Il s'écoule une certaine quantité de liquide que l'on ne

(1) QUINTON indique une teneur analogue.

recueille pas. On dissèque l'animal pour mettre le cœur à nu, que l'on reconnaît à ses battements. On l'incise et l'on recueille le sang qui s'en écoule. On en obtient plusieurs centimètres cubes.

Cette plus grande teneur du sang en chlorure de sodium s'accorde bien avec le fait que la conductibilité électrique de ce liquide est très notablement supérieure à celle de l'eau douce, comme l'a montré CALUGAREANU.

La température de congélation que nous avons déterminée pour le sang de l'Anodonte est en très bon accord avec celle indiquée par DAMBOVICEANU et CALUGAREANU.

Voyons maintenant comment varie la concentration du milieu intérieur des Invertébrés d'eau douce quand on augmente la concentration de cette eau douce.

III. — Variation de la concentration du milieu intérieur des Invertébrés d'eau douce quand on augmente la salinité de l'eau extérieure

Bien peu de recherches ont été entreprises sur ce sujet et c'est à QUINTON que nous sommes redevables de la plupart de nos connaissances sur cette question. Il fit porter ses expériences sur les deux plus gros Invertébrés de nos cours d'eau, l'Ecrevisse et l'Anodonte.

Ayant constaté qu'à l'état normal l'Ecrevisse maintient intérieurement « un milieu vital à taux salin élevé, constant et spécifique », il en conclut qu'il n'existait aucune communication osmotique entre ce milieu et le milieu extérieur et que, par suite, la concentration de ce milieu vital ne devait pas être modifiée quand on augmentait la teneur en substances salines du liquide entourant ce Crustacé (1). C'est ce qu'il voulut vérifier. Son mode opératoire est le même que celui qu'il utilisa pour son étude sur les Invertébrés marins. Il dose le chlorure de sodium dans l'hémolymph de l'Ecrevisse ayant séjourné plus ou moins longtemps dans de l'eau douce mélangée d'eau de mer ou additionnée de sel marin. Il compare cette teneur à celle de l'hémolymph de l'animal normal.

QUINTON résume ainsi ses expériences : « Tant que l'Ecrevisse est douée de vie, elle résiste d'une façon presque parfaite aux différences de concentration saline du milieu extérieur. C'est ainsi que dans des milieux accusant 3,3 g., 13 g., 18,7 g., 19,9 g., 21 g., 26 g., 32,3 g. de chlorure de sodium pour 1.000, les Ecrevisses vivant dans ces milieux depuis des temps relativement très longs (jusqu'à 13 h. 45), maintiennent la concentration saline de leur milieu vital à peu près invariable : 11 g., 11,4 g., 14,39 g., 14,15 g., 13,45 g., 13,16 g., 14,62 g., 12,63 g., 11,5 g., 14,5 g., 12,9 g., 11,9 g., soit une moyenne de 11,9 g., tout à fait voisine du taux normal moyen : 12 g. Ce n'est que sur l'animal mort que des écarts quelque peu importants ont pu être constatés : 15,67 g., 15,09 g., 18,48 g. » ; QUINTON ne recherche pas si, au moment où il retire l'animal du liquide salé, l'équilibre osmotique est réalisé entre ce liquide et le sang de l'animal. Il est vrai que dans un grand nombre de ses expériences, les animaux étaient déjà malades au moment de la prise de leur sang et n'auraient pas pu séjourner un temps beaucoup plus long dans le milieu utilisé.

(1) Cette conclusion de QUINTON ne s'imposerait pas aujourd'hui. Nous avons vu en effet que la concentration du sang des Téléostéens d'eau douce était notablement supérieure à celle du milieu externe, à l'état normal, et que cependant, cette concentration sanguine se modifiait notablement quand on augmentait la salinité de l'eau douce entourant le poisson. Contrairement à ce que pensait QUINTON, une différence de concentration entre les deux milieux intérieur et extérieur d'un animal aquatique n'entraîne pas forcément l'indépendance osmotique de ces deux milieux.

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que QUINTON n'avait trouvé qu'une quantité très faible de chlore dans le sang de l'Anodonte, quantité analogue, pensait-il, à celle contenue dans l'eau douce. Il voulut voir si ce milieu vital de l'Anodonte communiquait par osmose avec le milieu extérieur. Ayant fait vivre des Anodontes dans de l'eau salée, il constata que l'hémolymph de ces Mollusques contenait toujours à peu près autant de NaCl que le liquide baignant l'animal, quoique ce liquide soit toujours un peu plus riche en NaCl que l'hémolymph. QUINTON conclut que, contrairement à l'Ecrevisse, la concentration du sang de l'Anodonte est largement fonction de celle du milieu extérieur, avec lequel ce sang est en relation osmotique.

L'adaptation de l'Anodonte à l'eau de mer et, plus généralement aux solutions salées a été étudiée par PHILIPPSON, G. HANNEVART et J. THIEREN. Au lieu de faire porter leurs déterminations physico-chimiques uniquement sur le sang, c'est principalement l'extrait total des animaux qui est l'objet de leur étude. Ils trouvent que la pression osmotique, mesurée au cryoscope, de ces extraits est toujours supérieure à celle du liquide extérieur d'environ 0,08. Par contre, leur conductibilité électrique est notablement plus faible. Cela prouve qu'une certaine partie de la pression osmotique des extraits est produite par des substances organiques. Les auteurs indiquent que le sang est toujours plus riche en sels que les extraits mais que sa conductibilité reste inférieure à celle du milieu qui entoure l'animal.

CALUGAREANU, au cours d'un travail cité au paragraphe précédent, fut amené à placer une Anodonte dans de l'eau salée progressivement. Il constata que la concentration du sang du Mollusque augmentait et se maintenait très rapprochée de celle de l'eau salée extérieure. Voici les chiffres de son expérience :

$$\begin{array}{lcl} \text{Eau salée} & \left\{ \begin{array}{l} \Delta = - 0,235 \\ K_{25} = 10^{-4} \times 70,072 \end{array} \right. & \text{Sang} \left\{ \begin{array}{l} \Delta = - 0,250 \\ K_{25} = 10^{-4} \times 72,230 \end{array} \right. \end{array}$$

Contrairement aux résultats des expérimentateurs belges, la conductibilité du sang est légèrement supérieure, et non inférieure à celle de la solution entourant l'animal.

De toutes ces expériences sur les Invertébrés d'eau douce, il se dégage que la concentration du sang d'un certain nombre de ces Invertébrés est sensiblement indépendante de celle du milieu extérieur. Tel est le cas de l'Ecrevisse. D'autres au contraire, et c'est ainsi que se comporte l'Anodonte, subissent l'influence osmotique de ce milieu. La concentration moléculaire de leur sang est toujours à peu près la même que celle du liquide qui les entoure.

Toutes ces conclusions sont le résultat de l'étude de deux espèces seulement. Après avoir déterminé les constantes normales du milieu intérieur de la Telfuse, nous avons voulu voir si ce milieu était en relation osmotique avec le liquide qui l'entourait, pensant qu'il ne serait pas sans intérêt d'étendre à un autre Crustacé d'eau douce les recherches des physiologistes qui nous ont précédé dans l'étude de ces animaux.

Nous avons en outre déterminé exactement comment se modifiait la concentration moléculaire du sang de l'Anodonte sous l'influence de l'augmentation de la salinité extérieure. Cette question n'a été étudiée que d'une façon incomplète jusqu'à ce jour. Nous avons transporté ces Mollusques dans un certain nombre de mélanges d'eau de mer et d'eau douce afin d'obtenir les éléments nécessaires au tracé de la courbe représentant la pression osmotique du sang en fonction de celle du liquide entourant l'animal.

Recherches sur la Telfuse

Dès nos premières expériences sur ce Crustacé, nous avons constaté qu'il supportait d'une façon remarquable les variations de salure du milieu qui le baigne. On peut le faire

passer brusquement de l'eau douce dans l'eau de mer sans qu'il paraisse incommodé par cette augmentation de salinité. Il survit en effet plus d'un mois dans ce nouveau milieu. L'unique Crustacé d'eau douce étudié jusqu'alors au point de vue qui nous intéresse, l'Ecrevisse, ne présente pas une telle résistance. P. BERT a montré jadis qu'elle succombait dans l'eau de mer en moins de trente heures. La Telpause nous apparaît donc comme un Crustacé d'eau douce adapté aux changements de salinité, comme l'est le *Carcinus maenas*, Crustacé marin.

Voyons maintenant comment la pression osmotique du milieu extérieur influe sur celle du sang. Il faut commencer par déterminer le temps nécessaire à l'établissement de l'équilibre d'échange entre les milieux intérieur et extérieur de la Telpause. Nous avons vu que cet équilibre est rapidement réalisé chez les Crustacés marins, en un jour au maximum. Les expériences suivantes vont nous montrer que les échanges osmotiques se produisent beaucoup plus lentement chez la Telpause.

A) Deux Telpauses sont placées dans un mélange d'eau de mer et d'eau douce de $\Delta = -1^{\circ}10$.

Au bout de quatre jours, un des Crabes est sacrifié. Son sang se congèle à $-1^{\circ}26$.

Après un séjour total de dix-sept jours, le second animal est saigné. Le Δ de son sang est de $-1^{\circ}32$. Ainsi l'équilibre d'échange n'était pas atteint après quatre jours.

B) Trois Telpauses sont placées dans un mélange se congelant à $-1^{\circ}31$.

Le premier Crabe est retiré au bout de cinq jours. Le Δ de son sang est $-1^{\circ}30$.

Le second Crabe reste douze jours dans le mélange. Le point cryoscopique de son sang est alors de $-1^{\circ}48$.

Enfin le dernier n'est retiré qu'après avoir passé vingt jours dans le mélange. Son sang se congèle à $-1^{\circ}49$, c'est-à-dire à la même température que celui du Crabe précédent.

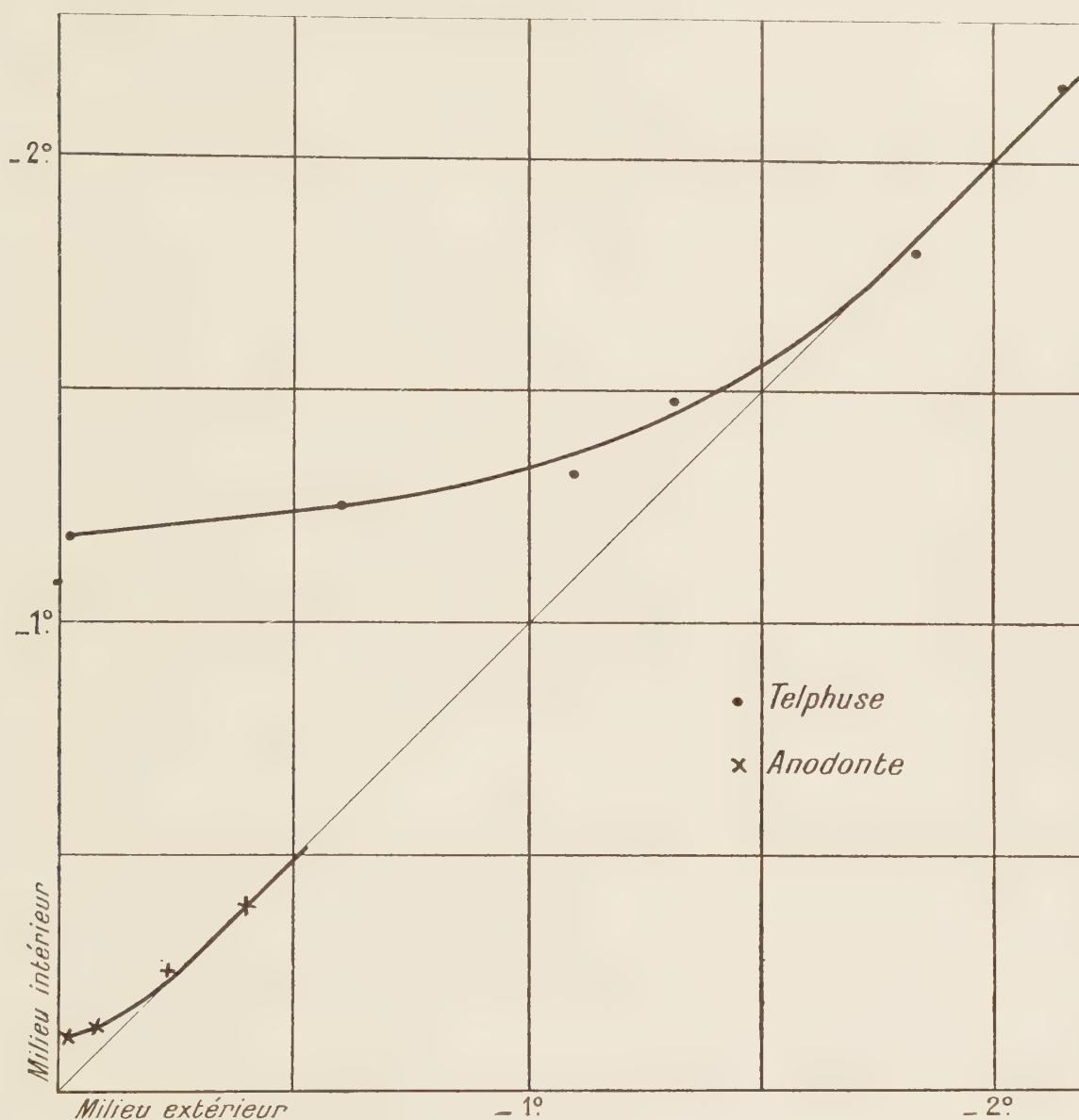
Ces expériences montrent bien avec quelle lenteur se font les échanges osmotiques chez ce Crustacé d'eau douce. Douze jours au moins sont nécessaires pour que l'équilibre soit réalisé. Aussi dans toutes les expériences faites avec cet animal, la durée de séjour dans les solutions n'a jamais été inférieure à quinze jours.

Le tableau ci-dessous indique les résultats obtenus.

POINT DE CONGÉLATION DU MILIEU EXTÉRIEUR	POINT DE CONGÉLATION DU SANG	DURÉE DU SÉJOUR
$-0^{\circ}02$	$-1^{\circ}17$	
$-0^{\circ}60$	$-1^{\circ}25$	15 jours
$-1^{\circ}10$	$-1^{\circ}32$	17 jours
$-1^{\circ}31$	$-1^{\circ}49$	20 jours
$-1^{\circ}83$	$-1^{\circ}80$	29 jours
$-2^{\circ}15$	$-2^{\circ}16$	20 jours

Il ressort de ces documents que la concentration moléculaire du sang de la Telpause dépend de celle du liquide qui l'entoure. Elle augmente à mesure que l'eau environnante s'enrichit en sels mais elle augmente d'abord moins vite que celle du milieu extérieur. Il en résulte que cette concentration sanguine, très supérieure au début à celle de l'eau ambiante, s'en approche de plus en plus pour lui devenir égale. Une fois cette égalité réalisée, l'isotonie entre le sang et le liquide environnant se maintient quand la teneur en sels du milieu extérieur continue à croître. C'est ainsi que, placée dans l'eau de mer, la Telpause augmente la pression

osmotique de son milieu intérieur de manière à ce qu'elle devienne égale à celle de l'eau de mer. La *Telphusa* se comporte alors comme un Crustacé marin, dont le sang se congèle à la même température que l'eau de mer.



Point de congélation du sang de la *Telphusa* et de l'*Anodonta* en fonction de celui du milieu extérieur.

Si nous examinons la courbe tracée à l'aide des résultats inscrits dans le tableau précédent nous constatons que sa forme se rapproche de celle du *Carcinus mænas*. Ces deux courbes d'abord confondues avec la bissectrice dans la région correspondant aux salinités voisines de celle de l'eau de mer, ou supérieures, s'en écartent de plus en plus, au fur et à mesure que la dilution augmente. Bien que ces deux Crustacés vivent normalement, l'un dans l'eau de mer (*Carcinus mænas*), l'autre dans l'eau douce (*Telphusa*), les variations de salinité du milieu

extérieur provoquent à peu près les mêmes modifications de concentration moléculaire du sang. La différence fondamentale réside dans le fait que les échanges osmotiques se produisent beaucoup plus lentement chez le Crustacé d'eau douce que chez le Crustacé marin.

Nous venons donc de montrer que la concentration du sang de la *Telphusa* dépendait beaucoup de celle du milieu extérieur. Il est permis de se demander pourquoi les physiologistes qui ont fait des recherches semblables sur l'Ecrevisse ne sont pas arrivés à une conclusion analogue. Ainsi, QUINTON indique que le milieu intérieur de cet Invertébré présente une constance remarquable, comme nous l'avons déjà rappelé (1).

On peut d'abord penser, et c'est une explication plausible, que la *Telphusa* et l'Ecrevisse ne réagissent pas d'une manière identique aux variations de la salinité extérieure, mais on peut aussi remarquer que, dans toutes les expériences faites sur l'Ecrevisse, la durée du séjour des animaux dans les solutions salées n'étaient que de quelques heures, d'une journée au maximum. De plus, les expérimentateurs ne se sont pas préoccupés de savoir si les échanges osmotiques étaient terminés au moment où l'expérience prenait fin. Or, nous venons de montrer que la concentration moléculaire du sang de la *Telphusa* n'avait que très peu varié trois ou quatre jours après le transfert de l'animal dans un milieu de salinité différente. Il est naturel de supposer que chez l'Ecrevisse les échanges osmotiques sont également très lents et, par suite, la concentration sanguine a très peu varié après quelques heures de contact de cet animal avec les solutions salées. On s'explique alors pourquoi le milieu intérieur de l'Ecrevisse a paru si fixe. Il aurait donc fallu, pour réaliser des expériences correctes, laisser bien plus longtemps les animaux dans les solutions, mais cela était souvent impossible car ce Crustacé supporte mal l'eau salée et bien souvent, les expérimentateurs, comme QUINTON, retiraient l'animal au moment où il présentait des apparences morbides. Nous sommes donc amenés à penser que les Ecrevisses transportées dans l'eau salée meurent avant que les échanges osmotiques ne soient terminés entre leur milieu intérieur et le liquide externe. Nous avons déjà constaté un fait analogue pour beaucoup d'animaux, par exemple pour les Carpes placées brusquement dans des solutions de Δ inférieur à $-0^{\circ}80$ et aussi pour les Crustacés marins et les Sélagiens transportés dans l'eau douce.

Nous avons vu, au chapitre III, que nous avons tranché cette difficulté chez les Carpes en n'augmentant que très progressivement la salinité de l'eau entourant le poisson. Il est pro-

(1) Nous même, avant notre étude sur la *Telphusa*, avons cherché comment variait la concentration moléculaire du sang de l'Ecrevisse. La durée du séjour des animaux dans des solutions de sel marin dans l'eau douce était d'environ 24 heures. Nous pensions alors que cette durée était largement suffisante pour que les échanges osmotiques entre l'animal et son milieu extérieur, aient pu s'accomplir entièrement. Comme QUINTON, nous avons constaté que le milieu vital de ce Crustacé était remarquablement fixe. Voici les résultats que nous avons alors trouvés et que nous ne rappelons que pour mémoire car nous ne leur attachons plus actuellement qu'un intérêt très relatif.

POINT DE CONGÉLATION DU MILIEU EXTÉRIEUR	POINT DE CONGÉLATION DU SANG
— $0^{\circ}02$	— $0^{\circ}80$
— $0^{\circ}85$	— $0^{\circ}84$
— $1^{\circ}00$	— $0^{\circ}83$
— $1^{\circ}45$	— $0^{\circ}93$
— $1^{\circ}90$	— $0^{\circ}92$
— $2^{\circ}60$	— $1^{\circ}05$

La courbe tracée d'après ces documents est très peu inclinée sur l'axe des abscisses et coupe la bissectrice avec laquelle elle ne tend jamais à se confondre. Nous croyons inutile de reproduire cette courbe ici.

bable que le même artifice réussirait avec les Ecrevisses. On pourrait ainsi les amener à séjourner un temps suffisant dans les solutions pour que les échanges osmotiques soient terminés entre leurs milieux intérieur et extérieur. Nous pensons qu'en utilisant cette technique on constaterait que le sang de l'Ecrevisse peut subir des variations de concentration notables. Nous n'avons pas encore réalisé de telles expériences d'adaptation lente, mais nous nous proposons de les entreprendre un jour.

En résumé, la concentration moléculaire du sang de la Telpuse est fonction de la salinité externe, mais les échanges osmotiques ne se réalisent que très lentement entre le sang et le liquide ambiant. La Telpuse supportant bien les variations de salinité, les expériences peuvent être prolongées un temps suffisant pour que l'équilibre d'échanges soit réalisé. On peut penser que la fixité du milieu intérieur de l'Ecrevisse n'est qu'apparente et qu'elle provient du fait que ce Crustacé supportant mal les changements de salinité meurt bien avant que son milieu intérieur ne se soit équilibré, au point de vue osmotique, avec le milieu extérieur. Des expériences d'adaptation lente doivent être entreprises pour vérifier cette hypothèse.

Recherches sur l'Anodonte

PHILIPPSON et ses collaborateurs ont montré que ce Mollusque pouvait vivre dans des solutions de salinité assez élevée, surtout si elles étaient équilibrées au point de vue physico-chimique, c'est-à-dire si elles contenaient en proportions convenables des métaux mono et plurivalents comme l'eau de mer. Dans les expériences qui suivent, les solutions dans lesquelles les animaux étaient transportés, étaient constituées par de l'eau de mer diluée avec de l'eau douce.

Nous n'avons réalisé qu'un petit nombre d'expériences qui suffisent d'ailleurs pour montrer comment la concentration moléculaire du sang dépend de celle du liquide ambiant. La durée du séjour a été d'une semaine et elle a été reconnue très suffisante pour que les échanges osmotiques fussent complets.

Voici nos résultats :

POINT DE CONGÉLATION DU MILIEU EXTÉRIEUR	POINT DE CONGÉLATION DU SANG
— 0°02	— 0°10
— 0°08	— 0°13
— 0°24	— 0°25
— 0°40	— 0°40

(La courbe tracée d'après les documents de ce tableau se trouve sur le même graphique que celle relative à la Telpuse, v. page 119).

Il ressort de ces expériences, que pour des salinités extérieures très faibles, le sang de l'Anodonte acquiert la même concentration moléculaire que le liquide qui baigne l'animal.

L'allure de la courbe rappelle celle de la Carpe et de la Telpuse. Elle se compose d'une petite portion à peu près rectiligne et peu inclinée sur l'axe des abscisses qui se confond ensuite avec la bissectrice.

CHAPITRE IX

Conclusions

Nous avons terminé l'exposé de nos recherches sur la concentration moléculaire du milieu intérieur des animaux aquatiques. Nous allons maintenant examiner quels résultats généraux s'en dégagent.

I. — Concentration moléculaire du sang des animaux vivant à l'état de nature

Les travaux effectués jusqu'à présent par L. FRÉDÉRICQ, BOTTAZZI, QUINTON, GARREY, etc., et que nous avons exposés dans l'historique, ont conduit aux notions classiques suivantes :

1^o Le milieu intérieur des Téléostéens n'est pas isotonique avec le milieu extérieur. Le sang des espèces d'eau douce est hypertonique au liquide ambiant tandis que celui des espèces marines est notablement hypotonique à l'eau de mer;

2^o Chez les Sélaciens et chez les Invertébrés marins, cette différence de concentration n'existe plus de part et d'autre de la branchie. Leur sang se congèle toujours à la même température que l'eau de mer;

3^o Enfin les Invertébrés d'eau douce possèdent un milieu intérieur plus concentré que l'eau douce externe. Chez les uns, cette concentration sanguine est très forte, supérieure à celle des Téléostéens de même habitat, chez les autres, au contraire, elle diffère peu de celle de l'eau douce.

Les recherches que nous avons entreprises nous ont permis de vérifier la plupart de ces notions, mais grâce à des mesures nombreuses et précises et à l'emploi d'animaux qui n'avaient jamais fait l'objet d'une étude analogue, nous avons pu les préciser et parfois les rectifier.

Téléostéens d'eau douce. — Les déterminations cryoscopiques que nous avons faites sur le sang de Carpe confirment simplement les résultats obtenus antérieurement par d'autres expérimentateurs, à savoir que le sang des Téléostéens d'eau douce se congèle en général vers — 0°50. C'est justement cette température que nous avons obtenue comme moyenne de nos mesures. L'examen d'un certain nombre de Carpes nous a montré que les différences individuelles pouvaient atteindre 0°04 dans le point de congélation du sang. Ces différences ne paraissent pas attribuables à une variation saisonnière.

Téléostéens marins. — Au cours de notre étude des Téléostéens marins, nous avons trouvé que la différence de concentration qui existe normalement entre le sang de ces poissons et l'eau de mer est particulièrement grande chez la Rascasse. En effet, le sang de cet animal se congèle dès — 0°63. Jusqu'à présent, les points cryoscopiques trouvés pour le sang des autres Téléostéens marins étaient notablement plus bas. Dans ses premières recherches, BOTTAZZI avait cru pouvoir conclure que la pression osmotique du sang des Téléostéens marins était environ la moitié de celle de l'eau de mer. Cette relation résultait d'une simple coïncidence, provenant du fait que le sang des espèces examinées se congelait vers — 1°. Les recherches postérieures montrèrent que la température cryoscopique du sang des poissons osseux marins

n'est pas, en général, aussi basse que celle qui caractérise les espèces étudiées par BOTTAZZI, mais, à notre connaissance, on n'avait pas encore trouvé un poisson marin dont le milieu intérieur soit aussi peu concentré que celui de la Rascasse. Les Téléostéens marins possèdent donc une concentration sanguine très variable d'une espèce à l'autre. D'après les documents publiés jusqu'à présent, on voit que le point cryoscopique du sang de ces animaux est compris entre $\Delta = -0^{\circ}63$ (Rascasse) et $-1^{\circ}04$ (*Charax puntazzo*, BOTTAZZI). On peut admettre qu'en moyenne le sang des Téléostéens marins se congèle vers $-0^{\circ}75$. On voit donc qu'au point de vue de la pression osmotique de leur sang, les Téléostéens marins constituent un groupe beaucoup moins homogène que les Téléostéens d'eau douce.

Téléostéens adaptés aux changements de salinité. — Nos déterminations cryoscopiques n'ont porté que sur le sang de l'Anguille. Elles sont en bon accord avec celles qui ont déjà été faites. Nous avons constaté que la température de congélation du milieu intérieur de ce poisson (pêché en eau douce) est en moyenne de $-0^{\circ}63$ et qu'elle présente des différences notables d'un individu à un autre. Nous l'avons trouvée comprise entre $-0^{\circ}57$ et $-0^{\circ}66$. Les écarts individuels sont beaucoup plus accentués que chez les autres poissons d'eau douce.

La concentration moléculaire du milieu intérieur de l'Anguille (exprimée par $\Delta = -0^{\circ}63$), est notablement plus forte que celle des autres Téléostéens d'eau douce dont le sang se congèle en général vers $-0^{\circ}50$. Nous pensons que ce fait n'est pas sans rapport avec la propriété que possède l'Anguille d'être adaptée aux changements de salinité. Il est intéressant de remarquer qu'au cours de ses études sur l'Epinoche, autre Téléostéen supportant bien les variations de la salinité extérieure, M^{lle} GUEYLARD a constaté que les extraits à la presse du corps entier de ce poisson se congelaient notablement plus bas que ceux qui provenaient de poissons d'eau douce non adaptés (Goujons, Carpes). Il semble que l'on puisse en déduire que le sang de l'Epinoche se congèle lui-même à une température plus basse que celle des autres poissons non adaptés. Les poissons d'eau douce qui supportent le passage brusque dans l'eau de mer nous apparaissent donc comme possédant une concentration sanguine supérieure à celle des Téléostéens d'eau douce ne jouissant pas de cette propriété. Le sang des poissons adaptés aux changements de salinité se congèle à une température intermédiaire entre celle des poissons d'eau douce ($-0^{\circ}50$) et celle des Téléostéens marins ($-0^{\circ}75$) (1).

Sélaciens. Les déterminations cryoscopiques précises que nous avons faites sur le milieu intérieur des Sélaciens nous ont montré que, contrairement à la notion classique, ce milieu n'est pas isotonique avec l'eau de mer qui entoure l'animal, mais lui est sensiblement hypertonique. La température de congélation du sang des Sélaciens est *toujours inférieure* de plusieurs centièmes de degrés à celle de l'eau de mer. RODIER avait entrevu ce fait, mais, faute d'expériences suffisamment nombreuses, il n'avait pu en affirmer la généralité. Toutes les déterminations précises que nous avons effectuées nous ont toujours montré cette hypertonie du sang des Sélaciens et nous pensons que c'est une propriété constante du milieu intérieur des poissons cartilagineux de posséder une concentration moléculaire légèrement *plus forte* que celle du milieu extérieur.

Remarquons que, dans l'état actuel de nos connaissances, les Sélaciens sont les seuls, parmi tous les animaux marins, qui aient un milieu intérieur dont la concentration moléculaire soit *supérieure* à celle de l'eau de mer. Le sang des autres animaux marins est, ou

(1) Nous avons mesuré le Δ du sang de Congre et de Murène, Téléostéens marins très voisins en organisation de l'Anguille. Nous avons trouvé $-0^{\circ}78$ et $-0^{\circ}76$. On peut remarquer que le Δ du sang de l'Anguille, $-0^{\circ}63$, est la moyenne arithmétique entre celui du Congre et celui des Téléostéens d'eau douce non adaptés ($-0^{\circ}50$).

hypotonique (Téléostéens) ou isotonique (Invertébrés) avec l'eau de mer environnante. Il n'est jamais hypertonique.

On sait, depuis assez longtemps, qu'une partie importante de la concentration moléculaire du sang des Sélaciens est produite par de l'urée. Connaissant la propriété que possèdent en général les tissus vivants d'être perméables à cette substance, nous nous sommes demandé si la pression osmotique élevée du sang de ces animaux, telle que l'indique le cryoscope, est bien celle qui se manifeste vis-à-vis des tissus, en particulier des globules rouges. Nous avons résolu cette question par l'emploi de la méthode du volume globulaire de HAMBURGER. Nous avons ainsi constaté que, bien que le cryoscope indique que l'eau de mer soit légèrement hypotonique au sérum, les globules diminuent considérablement de volume quand on les transporte dans l'eau de mer. Cette diminution montre que le sérum se comporte, vis-à-vis de ces éléments, comme s'il était moins concentré que l'eau de mer. Nous avons montré que ce fait avait bien pour cause la non intervention de l'urée dans l'établissement de la pression osmotique du sérum vis-à-vis des globules. En transportant ces globules dans une série de mélanges d'eau de mer et d'eau distillée, nous avons mis en évidence que le sérum se comportait comme si sa concentration moléculaire n'était représentée que par $\Delta = -1^{\circ}30$ environ, alors que son point de congélation était de $-2^{\circ}20$. La pression osmotique qu'il manifeste vis-à-vis des globules n'est à peu près que les $2/3$ de celle que le cryoscope indique.

Nous avons en outre montré que les tissus du Sélacien ne sont pas tous perméables à l'urée, en particulier ceux qui séparent l'animal du milieu extérieur, la peau et les branchies. Vis-à-vis de ces tissus, la pression osmotique du sérum est celle que l'on déduit de la totalité de la concentration moléculaire, telle que la mesure le cryoscope.

Invertébrés marins. Nos mesures cryoscopiques, qui ont porté sur un assez grand nombre d'espèces confirment simplement la notion classique qui indique que le milieu intérieur de ces animaux est exactement isotonique à l'eau de mer externe. La différence entre les points de congélation de ces deux milieux ne dépasse pas $0^{\circ}02$ et est de l'ordre des erreurs expérimentales.

Invertébrés d'eau douce. Nos connaissances sur le milieu intérieur des Invertébrés d'eau douce ne reposent que sur l'étude d'un très petit nombre de ces animaux. Jusqu'à présent on

	POINT DE CONGÉLATION du sang
Téléostéens d'eau douce	
a) Non adaptés aux changements de salinité.	— $0^{\circ}50$
b) Adaptés aux changements de salinité : Anguille.	— $0^{\circ}63$
Crustacés d'eau douce	
a) Non adaptés aux changements de salinité : Écrevisse.	— $0^{\circ}80$
b) Adaptés aux changements de salinité : Telpouse.	— $1^{\circ}17$

n'a mesuré le point de congélation du sang que d'un seul Mollusque, l'Anodonte, et d'un seul Crustacé, l'Écrevisse. Nous avons étendu ces recherches à un autre Crustacé d'eau douce, la

Telphuse, et nous avons constaté que son sang était, comme celui de l'Ecrevisse, mais à un plus haut degré, très hypertonique à l'eau douce. En effet, tandis que celle-ci se congèle à $-0^{\circ}02$, le point cryoscopique du milieu intérieur de la Telphuse est de $-1^{\circ}17$, celui de l'Ecrevisse de $-0^{\circ}80$. Nous avons en outre remarqué que la Telphuse supporte bien les changements de salinité, par exemple celui qui résulte du transport brusque de l'animal de l'eau douce dans l'eau de mer. Nous constatons donc, à propos de la Telphuse, ce que nous avons remarqué en étudiant l'Anguille, à savoir que le sang des animaux d'eau douce adaptés aux changements de salinité est très sensiblement plus concentré que celui des animaux de même organisation et de même habitat, mais ne jouissant pas de cette adaptation.

Il serait très désirable d'étudier d'autres Invertébrés d'eau douce. Malheureusement leur taille en général petite, rend difficiles ces recherches sur leur milieu intérieur.

Teneur en chlorure de sodium du milieu intérieur. Son rôle dans l'établissement de la concentration moléculaire.

En même temps que nous mesurons la concentration moléculaire du sang, nous avons, pour un grand nombre d'animaux, déterminé sa teneur en chlorure de sodium. Nous avons utilisé une méthode analytique très précise qui nous a montré qu'un grand nombre de dosages faits antérieurement par d'autres expérimentateurs, en particulier par QUINTON, étaient susceptibles de présenter des erreurs de plusieurs « pour cent ».

Les Invertébrés marins ont été l'objet de déterminations nombreuses et nous avons comparé la teneur en NaCl de leur sang à celle de l'eau de mer qui les entoure en prenant toutes les précautions nécessaires pour que leur sang soit bien en équilibre d'échanges osmotiques avec cette eau de mer.

Nous avons constaté que le milieu intérieur des Invertébrés supérieurs (Crustacés, Céphalopodes, Gastéropodes) contenait toujours notablement moins de chlorure de sodium que l'eau de mer. Le rapport de la teneur du sang à celle de l'eau de mer est en général voisin de 0,92, ce qui montre que la proportion de NaCl contenu dans le sang des Invertébrés supérieurs n'est qu'un peu plus des 9/10 de celle de l'eau de mer.

Par contre, nos dosages nous ont montré que le milieu intérieur des Invertébrés marins inférieurs (Vers, Échinodermes) contenait toujours exactement la même quantité de chlorure de sodium que l'eau qui les baigne.

QUINTON avait indiqué que le milieu intérieur d'un Mollusque d'eau douce, l'Anodonte, ne contenait pas plus de chlorure de sodium que l'eau douce elle-même. Nous n'avons pas pu vérifier ce fait et nous avons trouvé, au contraire, que le sang de cet animal avait une teneur en NaCl bien supérieure à celle du milieu ambiant et voisine de 1 g. par litre. Ce résultat s'accorde bien avec les mesures de la conductibilité électrique du sang de l'Anodonte que fit CALUGAREANU, conductibilité qui est notablement plus grande que celle de l'eau douce.

Le chlorure de sodium est le constituant minéral le plus important du sang de tous les animaux. Il nous a paru intéressant d'essayer de déterminer quelle part lui revenait dans l'établissement de la concentration moléculaire du sang des êtres aquatiques. Connaissant le point de congélation de ce milieu et sa teneur en NaCl, nous avons calculé le rapport de la concentration moléculaire due au NaCl à la concentration moléculaire totale en faisant les hypothèses suivantes : 1^o Le NaCl se comporte, au point de vue de la concentration moléculaire qu'il produit, comme s'il était réparti dans tout le volume du liquide; 2^o Sa dissociation n'est pas influencée par les autres substances du sang. Nous ne nous dissimulons pas que ces suppositions ne sont pas exactement conformes à la réalité, mais ce que nous désirions, c'était

moins de connaître la valeur exacte de ce rapport que de voir comment il varie à travers la série animale.

ANIMAUX	PRESSION OSMOTIQUE DU SANG	RAPPORT de la PRESSION OSMOTIQUE due au NaCl à la pression totale.
Mammifères.	Δ voisin de — 0°60 en général.	0,66
Téléostéens d'eau douce	Sang hypertonique à l'eau douce. Se congèle en moyenne vers — 0°50.	0,74 à 0,75
Téléostéens marins.	Sang hypotonique à l'eau de mer. Se congèle, suivant les espèces, entre — 0°63 et — 1°04.	0,75 à 0,76
Anguille	Sang plus concentré que celui des espèces d'eau douce non adaptées. Se congèle entre — 0°57 et — 0°66, en moyenne — 0°63.	0,72 à 0,74
a) vivant dans l'eau douce.		
b) vivant depuis longtemps dans l'eau de mer.	Δ peu différent de celui du sang de l'animal vivant en eau douce, voisin de — 0°65.	0,74 à 0,77
Sélaciens.	Sang légèrement hypertonique à l'eau de mer. La différence entre le Δ du sang et celui de l'eau de mer peut dépasser 0°1. Mais, vis-à-vis de la plupart des tissus, le sang se comporte comme s'il était notablement moins concentré que l'eau de mer, sa pression osmotique n'étant vis-à-vis de ces tissus qu'environ les 2/3 de celle mesurée au cryoscope.	0,41 à 0,47 ⁽¹⁾ 0,70 à 0,81 (moyenne 0,75) ⁽²⁾
Invertébrés marins supérieurs (Crustacés Céphalopodes...).	Sang isotonique à l'eau de mer.	0,91 en moyenne
Crustacés d'eau douce.	Sang très hypertonique à l'eau douce. Celui des espèces adaptées aux variations de salinités est plus concentré que celui de celles qui ne le sont pas. Δ sang Écrevisse = — 0°80. Δ sang Telpouse = — 1°17.	0,91 à 0,93
Invertébrés inférieurs marins (Echinodermes Vers).	Sang isotonique à l'eau de mer.	1
Eau de mer.		1

Nous avons constaté que, d'une manière générale, le rôle du chlorure de sodium dans l'établissement de la concentration moléculaire est d'autant plus important que l'animal est moins élevé en organisation. C'est ainsi que la valeur du rapport envisagé est de 0,66 pour

(1) Valeur correspondant à la pression osmotique totale mesurée au cryoscope.

(2) Valeur correspondant à la pression osmotique que le sérum manifeste vis-à-vis des globules rouges.

les Mammifères, 0,75 pour les Téléostéens (marins et d'eau douce), 0,91 pour les Invertébrés supérieurs (marins et d'eau douce) 1 pour les Invertébrés inférieurs marins. Le cas du Sélacien est particulièrement intéressant. Dans la classification le Sélacien se place entre les Téléostéens et les Invertébrés supérieurs. On doit donc s'attendre à trouver comme valeur du rapport pour son sang un nombre compris entre 0,75 et 0,91. Or, on trouve 0,45, nombre inférieur à celui qui correspond aux Mammifères. Nous avons pensé que cette irrégularité provenait de ce que nous avons pris comme concentration moléculaire totale celle qui est indiquée par le cryoscope et qui est beaucoup plus élevée que celle qui se manifeste vis-à-vis de la plupart des tissus. Nous avons alors comparé la concentration due au Na Cl à celle qui correspond à la pression osmotique que le sérum manifeste vis-à-vis des tissus (globules rouges) et nous avons alors trouvé pour la valeur du rapport envisagé des nombres qui sont très voisins de ceux que l'on trouve pour les Téléostéens. L'irrégularité constatée plus haut a donc ainsi disparu.

Les différentes valeurs que présente ce rapport dans l'échelle animale montre qu'au fur et à mesure que l'être s'élève en organisation, d'autres substances viennent s'adjoindre au chlorure de sodium pour concourir à l'établissement de la pression osmotique du sang. Chez les Invertébrés inférieurs marins la totalité de cette pression (ou peu s'en faut) est produite par des chlorures. Chez les Mammifères, au contraire, le tiers de celle-ci est attribuable à d'autres substances, organiques ou minérales.

Nous avons également constaté que la valeur de ce rapport paraissait indépendante de la nature du milieu extérieur, eau douce ou eau de mer. Il a très sensiblement la même valeur pour les Téléostéens marins et les Téléostéens d'eau douce d'une part, pour les Crustacés marins et ceux de rivières, d'autre part. Cependant la concentration moléculaire du sang des espèces marines est bien différente dans les deux cas de celle des espèces d'eau douce. L'identité des valeurs du rapport dans les deux cas montre que la différence d'habitat n'entraîne pas une modification de la composition chimique relative (au moins en ce qui concerne le NaCl), mais seulement de la concentration moléculaire totale. L'étude de l'Anguille confirme ce fait car on trouve très sensiblement que la proportion de concentration moléculaire due au chlorure de sodium de son sang est la même que l'animal vive dans l'eau douce, ou, au contraire, qu'il vienne de séjourner longtemps dans l'eau de mer.

Le tableau précédent met en évidence les conclusions précédentes. Il contient la concentration moléculaire du sang et la valeur du rapport envisagé.

II. — Influence des variations de la salinité du milieu extérieur sur la concentration du sang des animaux aquatiques

Nous avons déterminé comment se modifie la concentration du sang d'un certain nombre d'animaux aquatiques quand on fait varier la salinité de l'eau qui les entoure habituellement. Bien peu de recherches avaient été entreprises jusqu'à ce jour sur cette question. Quelques expérimentateurs avaient essayé de voir si des échanges osmotiques pouvaient s'établir entre le milieu intérieur et le milieu extérieur de quelques poissons et Invertébrés. Ils ont employé dans ce but des méthodes indirectes : variation de poids de l'animal, modification de la teneur en chlore du sang (QUINTON, SUMNER). Ces méthodes sont plutôt qualitatives que quantitatives, en ce sens qu'elles ne permettent pas de déterminer la relation qui lie la concentration du sang à celle du milieu ambiant. Elles montrent simplement si cette concentration du sang dépend, ou non, de la salinité du liquide entourant l'animal. Plusieurs physiologistes cependant, L. FRÉDÉRICQ, GARREY, ont recherché, à l'aide du cryoscope, comment

variait la concentration du sang quand on modifiait celle du milieu extérieur, mais presque toutes leurs expériences sont passibles d'une critique grave : ils ne se sont pas préoccupés de savoir si les échanges osmotiques entre le sang et le liquide externe étaient terminés au moment où l'animal était retiré de ce liquide. Si l'on ne prend pas cette précaution, le résultat des expériences est peu intéressant car, ce qu'il importe de connaître, c'est la concentration du sang qui correspond à l'équilibre d'échanges avec le nouveau milieu extérieur. Si l'on prélève le sang avant que cet équilibre ne soit atteint, on lui trouvera une concentration intermédiaire entre celle qui correspond à cet équilibre et celle qu'il possédait avant que l'on ne modifie la salinité du milieu habituel de l'animal. Ces concentrations transitoires ne présentent pas d'intérêt puisqu'elles ne sont pas fixes et dépendent essentiellement de la durée du séjour de l'animal. Au contraire, la concentration qui correspond à l'équilibre d'échanges est stable. C'est elle qui intéresse le physiologiste qui veut déterminer la loi reliant la concentration du sang à celle du milieu extérieur.

Au cours de nos recherches nous nous sommes assuré que cet équilibre d'échanges était bien atteint au moment où l'on prélevait le milieu intérieur de l'animal (1). Cette condition n'est pas toujours facile à réaliser avec les animaux qui supportent mal les modifications de la salinité extérieure. Quand elles sont trop fortes, ils succombent avant que les échanges osmotiques soient terminés entre leur sang et le liquide ambiant. Nous avons tourné cette difficulté en ne modifiant que très lentement la salinité extérieure. De la sorte on peut amener les animaux à vivre beaucoup plus longtemps dans des milieux qui entraîneraient leur mort rapide si on les y introduisait brusquement. Grâce à cet artifice, les animaux survivent assez longtemps pour se mettre en équilibre d'échanges avec leur nouveau milieu.

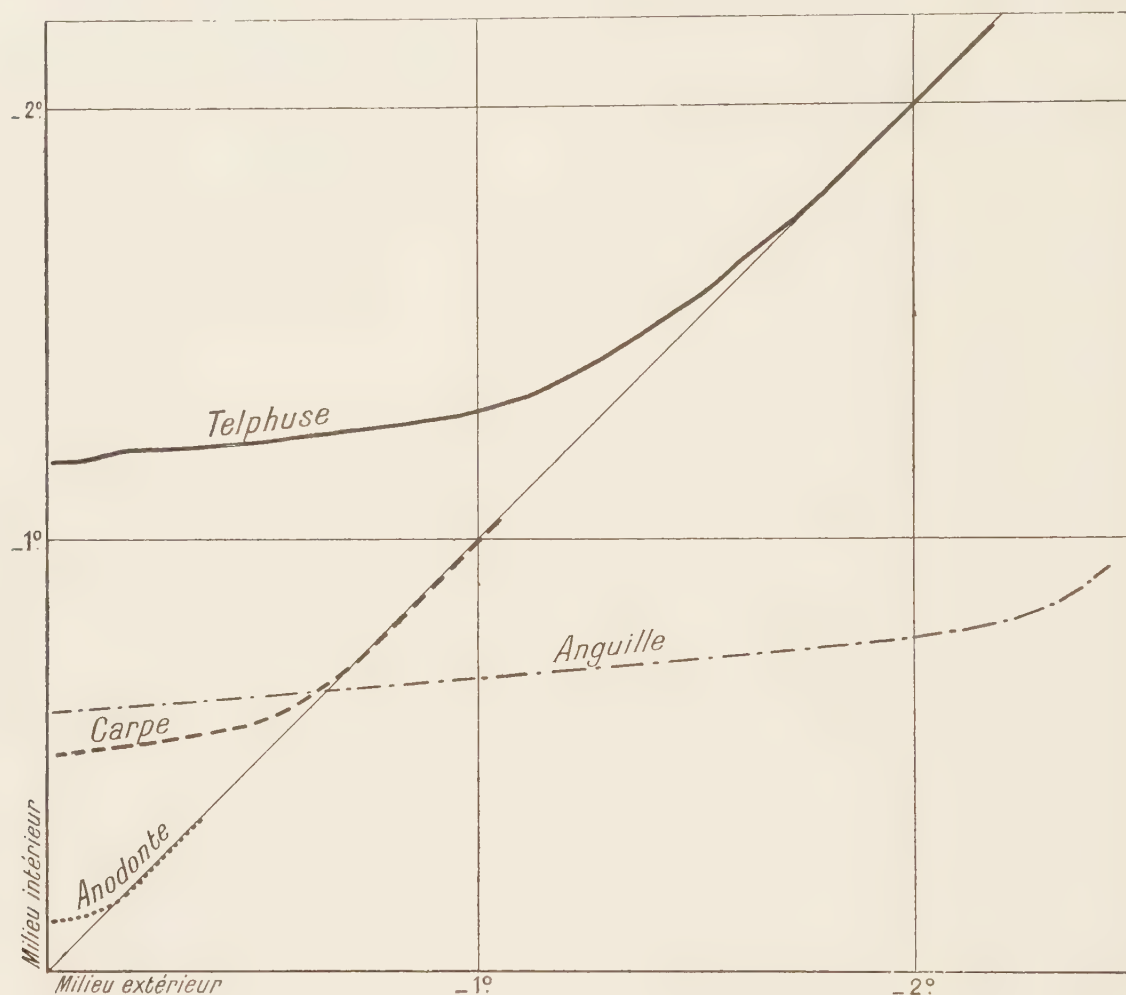
Nous avons ainsi déterminé comment variait la concentration du sang d'un certain nombre d'animaux aquatiques en fonction de celle du milieu extérieur et nous avons représenté graphiquement les relations trouvées.

Animaux d'eau douce. Nous avons réuni sur le même graphique les courbes correspondant aux divers animaux d'eau douce que nous avons étudiés.

Si l'on excepte l'Anguille, nous voyons que la concentration du milieu intérieur de tous ces animaux (Carpes, Telfuse, Anodonte) se modifie d'une manière similaire quand on augmente la salinité ambiante. L'allure générale des trois courbes est la même. Cette concentration sanguine, normalement plus élevée que celle de l'eau douce, augmente d'abord beaucoup moins que la concentration extérieure. La courbe est, au début, une droite peu inclinée sur l'axe des abscisses. La concentration du milieu externe se rapproche ainsi de plus en plus de celle du sang. Elle finit par l'atteindre pour une valeur d'autant plus élevée que la concentration du sang de l'animal vivant dans l'eau douce est elle-même plus forte. Une fois cette égalité réalisée, elle se maintient quand la salinité extérieure continue à croître. Le sang, qui jusqu'alors ne subissait que des variations de concentration beaucoup plus faibles que celles du liquide environnant a maintenant perdu cette indépendance et éprouve exactement les mêmes modifications que le milieu extérieur avec lequel il est désormais isotonique. Un changement important se produit donc dans le rythme des échanges osmotiques au moment où la concentration extérieure est devenue égale à celle du sang. Pour la Carpe cette égalité se réalise pour $\Delta = -0.65$ environ et il n'est peut-être pas sans intérêt de remarquer que ce poisson qui supporte très bien les concentrations inférieures à celles correspondant à ce Δ , succombe au contraire rapidement dans les liquides de plus fortes salinités. Nous pensons

(1) Il suffit pour cela, de voir si une prolongation de séjour amène une modification dans la concentration du sang.

que ce fait est en rapport avec la modification qui se produit dans le rythme des échanges osmotiques au voisinage de cette concentration.



Concentration moléculaire du sang de quelques animaux d'eau douce en fonction de celle du milieu extérieur.

Nos recherches nous ont montré que l'équilibre d'échanges entre le sang et le milieu extérieur ne s'établissait pas avec la même vitesse chez tous les animaux. Alors que quelques heures suffisent pour les Téléostéens, 12 jours sont nécessaires pour que ce résultat soit atteint chez la Tephuse. Jusqu'à présent, la notion classique indiquait que le milieu intérieur des Crustacés d'eau douce était sans relations osmotiques avec le liquide externe. On trouve en effet que le point de congélation du sang de l'Écrevisse et sa teneur en chlorure de sodium sont fort peu influencés par la salinité que l'on peut communiquer au milieu extérieur. Il ressort de nos expériences que la Tephuse ne se comporte pas de même et nous pensons que cette fixité apparente du milieu intérieur de l'Écrevisse tient peut-être à ce que les expérimentateurs n'ont pas laissé assez longtemps ce Crustacé dans les liquides salés. Par exemple, cette durée de séjour n'a pas été supérieure à 24 heures dans les recherches de QUINTON. Au bout du même temps, une Tephuse placée dans la même solution n'aurait pas éprouvé de variation dans la concentration de son sang. On voit combien il est important de s'assurer

que l'équilibre d'échanges est réalisé au moment où l'on prélève le sang de l'animal. Il serait très désirable de reprendre les expériences sur les Écrevisses; seulement, comme ces Invertébrés supportent mal l'eau salée, il faudrait n'augmenter que très progressivement la concentration de l'eau douce dans laquelle ils vivent habituellement. Tant que ces expériences n'auront pas été faites, on n'a aucune preuve que le milieu intérieur de l'Écrevisse soit sans relations osmotiques avec le liquide ambiant. Tout ce que l'on peut affirmer, c'est que si des échanges notables peuvent se produire entre le sang et le liquide externe, ils ne se réalisent que très lentement.

Nos recherches nous ont montré que la loi qui reliait la pression osmotique du sang de l'Anguille à celle du milieu ambiant était différente de celle qui concerne les Téléostéens non adaptés. Dans la zone de salinité que supporte bien l'Anguille, c'est-à-dire celle qui est comprise entre l'eau douce et l'eau de mer, la concentration du sang de l'Anguille varie fort peu quand celle de l'eau qui l'entoure subit des modifications notables. Ainsi le point de congélation du sang qui est de $-0^{\circ}63$ en moyenne quand le poisson vit dans l'eau douce, ne s'abaisse qu'à $-0^{\circ}78$ quand on transporte l'animal dans l'eau de mer de $\Delta = -2^{\circ}08$. Ce n'est que dans le cas où la salinité extérieure est très élevée et rapidement mortelle que la concentration du sang augmente d'une façon notable.

L'allure de la courbe relative à l'Anguille est bien différente de celle des Téléostéens non adaptés aux changements de salinité. Elle coupe la bissectrice sans se confondre ensuite avec elle. Pour une seule valeur de la concentration du milieu extérieur, le sang est isotonique avec ce milieu. Pour des concentrations supérieures, il lui est hypotonique. Au contraire, chez les autres Téléostéens, comme la Carpe, l'équilibre d'échanges correspond soit à l'hypertonie du sang avec le liquide ambiant, soit à son isotonie, mais jamais à son hypotonie.

On peut rapprocher les résultats que nous avons obtenus à propos de l'Anguille de ceux des expériences de M^{lle} GUEYLARD sur l'Épinoche. Elle constata que le poids du poisson, sa teneur en eau, la concentration moléculaire de ses tissus ne variaient pratiquement pas quand on transportait le poisson de l'eau douce dans l'eau de mer. Les Téléostéens adaptés aux changements de salinité nous apparaissent donc comme possédant des mécanismes grâce auxquels la concentration moléculaire de leur sang et de leurs tissus varie beaucoup moins que celle des Téléostéens d'eau douce non adaptés.

Nous avons montré que, chez l'Anguille, un de ces mécanismes protecteurs résidait dans la couche de mucus qui recouvre le corps de l'animal. La suppression même incomplète de ce mucus modifie profondément le rythme des échanges osmotiques du poisson avec son milieu extérieur. Son sang subit alors des modifications de concentration beaucoup plus considérables que celui de l'Anguille normale. Privée de son mucus, l'Anguille n'est plus adaptée aux changements de salinité et succombe rapidement quand on la transporte dans l'eau de mer. Nous ne voulons pas dire que le mucus constitue le seul mécanisme qui permette à l'Anguille de supporter les changements de salinité, mais nous pensons que c'est un des principaux.

Nous avons constaté que les Anguilles vivant depuis plusieurs mois dans l'eau de mer possédaient une concentration sanguine à peu près identique à celle des Anguilles d'eau douce. Cette concentration se traduisait par un Δ compris entre $-0^{\circ}64$ et $-0^{\circ}70$, alors que celui du sang des Anguilles qui n'ont séjourné que quelques jours dans l'eau de mer est de $-0^{\circ}78$. Il faut donc admettre que sous l'influence d'un très long séjour, l'Anguille tend à rétablir la concentration primitive de son sang ($-0^{\circ}63$ en moyenne). De nouvelles recherches sont nécessaires pour éclaircir cette question. Si les nôtres ont apporté quelques précisions sur

la physiologie du milieu intérieur de ce poisson si intéressant, bien d'autres problèmes la concernant sont encore à résoudre.

Animaux marins. Le milieu intérieur des Téléostéens nous est apparu remarquablement fixe. Le point de congélation du sang de la Murène et celui de la Rascasse était exactement le même, que l'on le détermine sur l'animal sortant de l'eau de mer, ou, au contraire, en train de mourir dans l'eau douce. Chez le Congre, par contre, nous avons observé une petite différence à la suite du séjour de plusieurs heures du poisson dans l'eau douce. N'ayant pas vérifié si les échanges osmotiques étaient terminés au moment où l'on retirait les animaux, nos expériences montrent seulement que, s'ils se produisent, ils sont beaucoup plus lents que chez les Téléostéens d'eau douce. Comme les animaux étaient mourants au moment où l'on prélevait le sang, il serait nécessaire de faire des expériences dans lesquelles la salinité varierait lentement afin de prolonger leur vie.

Remarquons d'ailleurs que si les poissons examinés ont présenté le même Δ du sang, qu'ils vivent dans la mer ou qu'ils viennent de séjourner dans l'eau douce, il serait imprudent de penser que tous les Téléostéens marins se comportent de même. SUMNER puis M^{lle} GUEYLARD ont montré que certains de ces poissons augmentaient de poids d'une façon notable quand on les transportait dans de l'eau de mer diluée, ce qui indique une entrée d'eau dans leur organisme et, par suite, un phénomène osmotique. Il serait intéressant de déterminer exactement comment varie la concentration du sang de ces poissons.

On voit donc que si certains Téléostéens marins meurent dans l'eau douce sans que la concentration de leur sang varie (Rascasse, Murène) d'autres, comme le Congre éprouvent une légère mais nette diminution de cette concentration et enfin quelques-uns, parmi lesquels *Cottus bubalis*, présentent des variations de poids notables qui sont l'indice d'échanges osmotiques importants. On peut penser que ces différences proviennent, non du fait que certains Téléostéens sont sans relation avec le milieu ambiant mais plutôt de ce que la vitesse avec laquelle se font ces échanges osmotiques est très variable d'une espèce à une autre, très faible chez la Rascasse et la Murène, grande au contraire chez le *Cottus*. Des expériences d'adaptation lente sont nécessaires pour éclaircir cette question.

Nos recherches sur les Sélaciens confirment les travaux antérieurs de QUINTON, L. FRÉDÉRICQ et GARREY. Elles montrent que la concentration du sang des poissons cartilagineux dépend dans une grande mesure de celle du milieu extérieur et que les échanges osmotiques se font beaucoup plus rapidement chez ces poissons que chez les Téléostéens marins. Nous avons en outre constaté que, sauf dans le cas où le milieu extérieur est, ou très dilué (eau douce), ou très concentré (eau de mer fortement sursalée), les échanges se bornent à un mouvement d'eau, les substances dissoutes n'y prenant pas part.

Les Invertébrés marins ont été l'objet d'une étude approfondie de notre part. Dans toutes nos expériences, nous nous sommes assuré que les échanges osmotiques entre le sang et le liquide ambiant étaient terminés au moment où l'on mesurait le point de congélation du sang. Nous avons ainsi constaté :

1^o Que tous les Invertébrés marins maintiennent leur sang isotonique au milieu extérieur quand on augmente la concentration de celui-ci ;

2^o Que chez les Invertébrés inférieurs (Echinodermes, Vers) cette isotonicité se maintient également quand on dilue l'eau de mer externe ;

3^o Mais que chez les Crustacés cette isotonicité ne subsistait que pour de faibles dilutions de l'eau de mer. Si la concentration de celle-ci diminue d'une façon notable, l'équilibre d'échanges ne correspond plus à l'isotonicité. Le sang reste hypertonique à l'eau de mer diluée. La

différence entre le point de congélation du sang et celui du milieu extérieur est d'autant plus grande que celui-ci est plus dilué. Elle dépend également de l'espèce. Elle est plus marquée pour *Platycarcinus pagurus* que pour *Maia squinado*. Mais le cas du *Carcinus mœnas*, Crustacé adapté aux changements de salinité est particulièrement intéressant car la différence entre la concentration moléculaire de son sang et celle du milieu extérieur est bien plus grande que chez les espèces non adaptées. Lorsque l'animal vit dans l'eau de mer ordinaire, son sang est isotonique avec elle, comme celui de tous les autres Invertébrés. Mais dès que l'on dilue cette eau de mer, l'isotonie fait place à une hypertonie, le sang se diluant toujours moins que l'eau de mer. La différence entre les Δ des deux milieux est d'autant plus grande que la concentration du liquide ambiant est plus faible. Elle atteint 0°60 quand le milieu extérieur se congèle dès — 0°63.

Cette hypertonie du sang correspond bien à l'équilibre d'échanges car elle a la même valeur, que le séjour du Crabe dans le liquide soit de 26 heures ou qu'il soit prolongé jusqu'à 15 jours.

Nous pensons que cette hypertonie du sang est en rapport avec la facilité avec laquelle le Crabe supporte les variations de salinité. On comprend qu'il résiste dans un liquide dont la dilution serait fatale à un autre Crustacé (non adapté), puisque son sang se dilue moins que celui du Crustacé non adapté.

On peut remarquer que la courbe reliant la concentration moléculaire du sang du *Carcinus mœnas* à celle du milieu extérieur ressemble à celle que nous avons tracée à propos de la Telpouse.

Bien que ces deux Crustacés adaptés aux changements de salinité vivent normalement l'un dans l'eau de mer, l'autre dans l'eau douce, la loi qui régit la concentration de leur sang est à peu près la même. La seule différence notable consiste en ce que les échanges osmotiques se font beaucoup plus rapidement chez le *Carcinus mœnas* que chez la Telpouse. Alors qu'ils sont à peu près terminés au bout d'un séjour de 24 heures du Crustacé marin dans son nouveau milieu, 12 jours sont nécessaires au Crustacé d'eau douce pour que le même résultat soit atteint.

Nos recherches complètent nos connaissances sur le milieu intérieur des Invertébrés marins. Elles montrent que, contrairement à la notion classique, le sang des Crustacés ne se maintient pas isotonique au liquide ambiant quand celui-ci est trop dilué. Ce fait est particulièrement accentué dans le cas du *Carcinus mœnas*, Crustacé adapté aux changements de salinité et qui n'avait pas encore été l'objet d'une étude spéciale.

DEUXIÈME PARTIE

LA RÉACTION IONIQUE

CHAPITRE PREMIER

Considérations générales

I. — Exposé de nos recherches

Après avoir recherché l'influence de la concentration moléculaire du milieu extérieur sur la vie des animaux aquatiques, il nous a paru intéressant d'étudier au même point de vue sa concentration ionique. Les recherches que nous avons entreprises jusqu'à présent à ce sujet sont peu nombreuses et ne concernent que quelques points particuliers de cette vaste question.

Nous avons d'abord voulu savoir quelle est la réaction du milieu qui entoure les animaux aquatiques et surtout entre quelles limites elle varie sous l'influence des causes naturelles. Si l'eau de mer a été très bien étudiée à ce point de vue, l'eau douce, par contre, semble avoir été négligée. Aussi est-ce seulement de ce dernier liquide que nous nous sommes occupé. LAPICQUE et TH. KERGOMARD ont montré *in vitro* que les plantes aquatiques, par leur assimilation chlorophyllienne, augmentaient considérablement pendant le jour l'alcalinité de l'eau douce qui les baignait, tandis que la nuit la réaction redevenait neutre ou même légèrement acide, par suite de la respiration de ces plantes. Nous avons voulu voir si ces variations de réaction se reproduisaient dans la nature avec la même amplitude et si, par suite, les animaux d'eau douce devaient supporter des modifications notables de la réaction de leur milieu extérieur.

Nous avons pensé que ces animaux aquatiques eux-mêmes pouvaient, grâce au gaz carbonique produit par leur respiration, modifier la réaction du liquide qui les entourait, et nous avons étudié systématiquement ce phénomène.

Ayant ainsi déterminé la réaction du milieu extérieur des animaux aquatiques et ses variations possibles, nous l'avons modifiée expérimentalement par les additions d'acides ou de bases afin de voir dans quelles limites de concentration des ions H^+ ou OH^- la vie des poissons était possible.

Enfin nos dernières recherches sont relatives à la détermination de la réaction du sang et des tissus de quelques Invertébrés, animaux qui ont été jusqu'à ce jour fort peu étudiés à ce point de vue.

II. — Techniques utilisées

Au cours de ce travail, nous avons employé, pour déterminer la réaction ionique, la méthode colorimétrique et la méthode électrométrique. Elles sont maintenant d'un emploi suffisamment courant dans les laboratoires de Physiologie pour que nous soyons dispensé de les exposer dans leurs détails. Nous allons seulement donner quelques précisions sur la manière dont nous les avons utilisées.

Méthode colorimétrique.

Nous nous sommes servi, pour constituer les solutions de comparaison, de P.H. connu, des mélanges de SORENSEN et du mélange borate de soude-acide borique de PALITZSCH. Ce dernier mélange est particulièrement bien approprié à la mesure de la réaction de l'eau de mer.

Nous avons pris comme indicateurs les colorants recommandés par CLARK mais, lorsque nous avions à mesurer la réaction de liquides contenant très peu de substances tampons, nous les avons utilisés dissouts, dans l'alcool et non dans l'eau, comme on le préconise habituellement. La raison de cette modification est la suivante : Lorsque l'on veut dissoudre les indicateurs dans l'eau, on doit leur ajouter une certaine quantité de soude caustique, car ces indicateurs, constitués par des acides faibles, sont très peu solubles dans l'eau tandis que leurs sels de sodium le sont beaucoup plus. Si la quantité de soude ajoutée est légèrement supérieure à celle qui est strictement nécessaire pour former le sel de sodium, la solution de l'indicateur possédera une certaine alcalinité qui pourra modifier d'une façon appréciable la réaction du liquide étudié, puisque celle-ci n'est pas stabilisée par des tampons. Aussi, dans ce cas, avons nous jugé préférable d'employer les indicateurs dissouts dans l'alcool, et à une dilution deux ou trois fois plus grande que celle qui est généralement utilisée.

Méthode électrométrique.

Nous avons toujours utilisé la méthode préconisée d'abord par HASSELBACH dans laquelle l'électrode de platine recouvert de noir de platine est saturée d'hydrogène à sec et l'établissement de la différence de potentiel entre l'électrode et le liquide accéléré par l'agitation, l'électrode plongeant très peu profondément dans le liquide. Cette méthode est maintenant classique. L'électrode au calomel était l'électrode $\frac{N}{10}$ et la différence de potentiel était mesurée à l'aide du potentiomètre à lecture directe construit par la maison CHAUVIN et ARNOUX. Il permet d'obtenir facilement une précision de 2 millivolts qui était largement suffisante pour nos recherches.

Lorsque nous travaillons à Paris, l'hydrogène nécessaire au montage de la pile de concentration nous était fourni par l'industrie et conservé dans une bombe sous pression. Avant de le diriger dans la pile, le gaz traversait deux flacons laveurs contenant de la soude caustique en solution puis un flacon à eau distillée. Cet hydrogène était alors d'une pureté suffisante car, ayant mesuré le P.H. des mélanges étalons de SORENSEN, nous lui avons toujours trouvé la même valeur que celle indiquée par l'auteur, à moins d'une demi unité de la première décimale près.

Lorsque nous avons dû faire des mesures électrométriques au bord de la mer, il nous a paru peu pratique de transporter notre bombe à hydrogène et nous avons jugé préférable de préparer notre gaz nous-même. Ordinairement, on utilise dans ce but l'action du zinc sur l'acide chlorhydrique ou sulfurique et plusieurs dispositifs ont été imaginés pour obtenir par

ce procédé ce gaz à volonté. Nous reprochons à tous ces appareils d'être lourds et d'un transport peu pratique. Il est en effet incommode d'emporter des acides dont le volume doit atteindre plusieurs litres si l'on a un certain nombre de mesures électrométriques à faire. Aussi nous avons cherché un autre procédé de préparation de l'hydrogène ne nécessitant qu'un appareil simple et léger et des produits chimiques solides afin de rendre leur transport beaucoup plus commode que celui des acides.

L'action du silicium sur les hydrates alcalins nous a fourni une méthode répondant à ces exigences. Ce métalloïde, comme on sait, attaque les bases alcalines dissoutes en dégageant de l'hydrogène et produisant un silicate. Avec la soude, la réaction peut se représenter ainsi :



L'hydrogène dégagé contient toujours de l'hydrure de silicium SiH_4 dont il faut absolument le débarrasser. Il suffit pour cela de laver le gaz dans du permanganate de potassium rendu alcalin qui retient en même temps les autres impuretés possibles.

Voici comment nous avons mis cette réaction en œuvre : L'appareil utilisé est un simple ballon à fond rond, en pyrex de préférence, muni d'un bouchon de caoutchouc à deux trous. L'un donne passage au tube de dégagement du gaz, l'autre à un tube de sûreté de longueur convenable. Dans le ballon on place une certaine quantité de silicium, grossièrement concassé en morceaux du volume d'un demi à un centimètre cube environ, et de la lessive de soude diluée. A la température ordinaire, la réaction est très lente. Aussi faut-il chauffer le ballon, mais dès que des bulles nombreuses commencent à se dégager, on retire la flamme et le dégagement de l'hydrogène se poursuit régulièrement. Lorsque l'on veut diminuer le débit gazeux, il suffit de refroidir légèrement le ballon avec de l'eau. Pour l'augmenter, au contraire, on le chauffe de nouveau. Enfin, lorsque l'on veut arrêter la production de l'hydrogène, on plonge le ballon dans l'eau froide. A la température du laboratoire le dégagement est très faible et si l'appareil est appelé à fournir une nouvelle quantité de gaz dans la journée, il est inutile de décanter le liquide alcalin. Si, au contraire, on prévoit que l'appareil sera inutilisé pendant quelque temps, il est bon de séparer le liquide du silicium qui reste et de laver le métalloïde tout en le laissant dans le ballon. Enfin, quand on constate que le dégagement de l'hydrogène devient difficile et ne se produit plus qu'en maintenant la source de chaleur sous le ballon, on remplace le liquide par une nouvelle quantité de solution alcaline en conservant le silicium qui reste. On en ajoute de temps en temps quand la quantité en a notablement diminué.

Nous nous sommes servi d'un ballon en verre Pyrex de 250 cm³. Nous y plaçons une quinzaine de grammes de silicium (1) et 100 cm³ d'un mélange de 20 cm³ de lessive de soude à 36° B. et 80 cm³ d'eau. Avec cette dilution, le dégagement gazeux est suffisamment rapide et convient très bien pour saturer l'électrode d'hydrogène. On peut le faire plusieurs fois sans avoir à renouveler la solution alcaline. Avant d'arriver dans l'électrode le gaz traversait trois flacons laveurs, les deux premiers contenant une solution saturée de permanganate de potassium rendue alcaline par de la soude caustique, le dernier contenant simplement de l'eau distillée. Cette purification s'est montrée suffisante. Le gaz, qui était fortement odorant à la sortie du ballon, n'avait plus aucune odeur après avoir traversé le permanganate. Avant sa purification, l'hydrogène brûlait avec une flamme verte. Au contraire, le gaz qui avait été lavé brûlait avec une flamme à peine visible et exempte de toute coloration verte. Enfin, les nombreuses mesures électrométriques que nous avons faites

(1) Le Silicium se trouve facilement dans le commerce. Celui que nous avons utilisé nous était fourni par la maison POULENC.

avec cet hydrogène sur des solutions étalons de P.H. connu ont toujours fourni les résultats attendus.

Lorsque nous devons transporter l'appareil, nous emportons non de la lessive de soude, mais de la soude caustique en plaques, produit solide dont le transport n'a aucun des inconvénients de ceux que présentent les acides liquides.

Cette méthode de préparation de l'hydrogène nous a paru si commode que nous l'avons employée à Paris depuis que notre bombe s'est trouvée vide et elle est utilisée constamment dans le laboratoire de Physiologie de l'Institut Océanographique. Elle nous paraît préférable à toutes les autres méthodes qui ont été préconisées pour préparer l'hydrogène. Nous la recommandons particulièrement aux expérimentateurs qui doivent emporter dans leurs déplacements un appareil producteur d'hydrogène.

CHAPITRE II

Réaction ionique du milieu extérieur des animaux aquatiques

Dans ce chapitre, nous allons voir quelle est la réaction de l'eau qui entoure les animaux aquatiques vivant à l'état de nature. Nous aurons surtout pour objet de déterminer quelles variations cette réaction peut éprouver sous l'influence des causes naturelles.

Nos expériences ont porté uniquement sur l'eau douce. Cependant, nous croyons utile, avant de les exposer, de rappeler brièvement l'état de nos connaissances générales sur la réaction de l'eau de mer.

I. — Réaction de l'eau de mer

La réaction de l'eau des mers et des océans a été l'objet d'un grand nombre de recherches. Elles ont été montré que cette eau présente un P.H. à peu près constant et qui ne varie que fort peu d'une mer à une autre. Ce P.H. est voisin de 8,0. La réaction de l'eau de mer est donc légèrement alcaline et ce n'est que très exceptionnellement qu'elle a été trouvée faiblement acide.

Au cours de la croisière du *Thor*, en 1910, PALITZSCH mesura la réaction de l'eau de l'Atlantique nord et de différentes mers : Baltique, mer du Nord, Méditerranée, mer de Marmara, mer Noire. Si l'on excepte les mesures concernant les eaux profondes de la mer Noire, on constate que le P.H. de ces différentes mers et océan est compris entre 8,35 et 7,95. Comme on le voit, l'écart entre ces chiffres extrêmes est faible. Il atteint seulement 4 unités de la première décimale. D'autres océanographes déterminèrent le P.H. de l'eau de mer à des endroits très éloignés les uns des autres : Dans le Pacifique, sur les côtes de la Floride, dans les Océans Arctique et Antarctique. Les résultats furent presque invariablement compris entre 7,5 et 8,5, et, le plus souvent voisins de 8,0. Ce n'est que dans des cas très spéciaux que l'on observa des P.H. inférieurs à 7,0, par exemple dans les fjords de Norvège et dans l'eau de fusion des icebergs.

En règle générale, l'alcalinité de l'eau de mer décroît avec la profondeur. Ainsi PALITZSCH trouva que l'eau de surface de l'Atlantique, en face les côtes du Portugal, avait un P.H. de 8,22. Il s'abaissait à 8,13 pour l'eau recueillie à 100 mètres de profondeur et à 7,95 pour celle recueillie à 2.000 mètres. Cette augmentation de la concentration des ions H^+ avec la profondeur fut observée d'une manière constante par PALITZSCH, et d'autres océanographes, dans différentes mers. Cette décroissance de l'alcalinité est particulièrement rapide dans la mer Noire. Cela provient de ce que les eaux de cette mer contiennent, à partir d'une faible profondeur, de l'hydrogène sulfuré, corps franchement acide. Voici, d'après PALITZSCH, le P.H. de l'eau de cette mer en fonction de la profondeur.

Profondeur	0	10	50	100	400	1.000 m.
P.H.	8,34	8,25	8,15	7,86	7,53	7,26

Sauf le cas spécial de la mer Noire, la variation de la réaction avec la profondeur est encore très faible. La différence entre le P.H. de l'eau de surface et celui de l'eau prélevée à 1.000 m., n'est que trois ou quatre unités de la première décimale.

Le plus souvent, les courants marins ont une réaction sensiblement différente de celle de l'eau de mer à travers laquelle ils se propagent. On sait d'ailleurs qu'il en est de même de leur température et de leur salinité. Ainsi le P.H. du Gulf Stream fut trouvé de 8,21 alors celui de l'Atlantique était de 8,05.

En résumé, nous voyons que la réaction de l'eau de mer est très sensiblement la même, et voisine de P.H. = 8,0 sur toute la surface du globe. Il en résulte, au point de vue biologique, que les animaux marins, quelles que soient leurs migrations, horizontales ou verticales, sont entourés par un milieu extérieur qui conserve la même réaction.

On a cherché également comment variait la concentration des ions H^+ de l'eau de mer en fonction du temps, si elle présentait des variations saisonnières ou diurnes.

MOORE vit que le P.H. de la mer d'Irlande oscillait pendant l'année entre 8,10 et 8,35, la valeur la plus basse correspondant au mois de décembre et, la plus élevée, au mois de mai. MAC CLENDON, par contre, n'observa aucune variation dans la réaction de l'eau des environs de Tortugas (Floride), qui se montra ainsi indépendante de la saison et de la marée. Son P.H. était compris entre 8,1 et 8,2.

LEGENDRE, à Concarneau, chercha à mettre en évidence les variations diurnes de la réaction de l'eau de mer littorale. Il constata qu'elle présentait le matin, à 8 heures, la valeur correspondant à P. H. = 8,0, augmentait jusqu'à 15 heures, où elle atteignait son maximum de 8,19, puis revenait le soir à sa valeur primitive. Il observa en même temps que la teneur en oxygène de l'eau présentait des variations exactement parallèles à celles du P.H., la plus forte teneur correspondant au P.H. le plus élevé. Ce fait, qui a été souvent remarqué par beaucoup d'océanographes, s'explique facilement : OSTERHOUT a montré expérimentalement que les algues marines, grâce à leur assimilation chlorophyllienne augmentaient l'alcalinité de l'eau de mer en détruisant le gaz carbonique qui est transformé en oxygène, corps non acide. Les variations diurnes observées par LEGENDRE proviennent de cette assimilation chlorophyllienne, Concarneau se trouvant au fond de la baie de la Forêt qui constitue une prairie sous-marine de 30 km² de superficie. Remarquons d'ailleurs que ces variations diurnes sont d'une amplitude très faible puisqu'elles ne dépassent par 2 unités de la première décimale.

L'eau du littoral peut seule être influencée par la photosynthèse des algues car celles-ci disparaissent dès que la profondeur devient un peu notable et, au large, le plancton végétal est en quantité beaucoup trop petite par rapport à l'énorme volume du liquide pour modifier la réaction de celui-ci.

De toutes ces recherches sur les modifications que le P.H. de l'eau de mer éprouve tant dans l'espace que dans le temps, il ressort que ces modifications sont toujours très faibles et que, pratiquement, la réaction de l'eau de mer est constante.

II. — Réaction de l'eau douce

OSTERHOUT, avons-nous déjà dit, a montré que les algues étaient capables de modifier la réaction de l'eau de mer. L. LAPICQUE et Th. KERGMARD ont pensé que, de même, les végétaux d'eau douce devaient, sous l'influence de la lumière, alcaliniser le liquide ambiant. C'est ce que des expériences leur ont permis de vérifier. Ils ont constaté que cette propriété est bien plus développée chez les végétaux d'eau douce que chez les algues marines, car tandis qu'OSTERHOUT n'avait observé que des variations du P.H. ne dépassant pas une unité, celles constatées par L. LAPICQUE et M^{lle} KERGMARD atteignent 3 unités, le P.H. augmen-

tant de 7,2 à 10,0. Ceci montre que la concentration des ions H^+ est 1.000 fois plus faible à la suite de l'introduction des plantes aquatiques qu'avant. Au moment même où L. LAPICQUE et M^{lle} KERGMARD publiaient leurs résultats, nous avons entrepris depuis quelque temps des expériences analogues qui nous avaient montré des variations de même amplitude (1). Ces résultats nous ont conduit à penser que l'eau des cours d'eau (dont le lit est généralement garni de plantes aquatiques) devait présenter de grandes différences de réaction au cours d'une journée et, qu'en plus, son alcalinité devait augmenter au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la source, puisque le contact entre les plantes aquatiques et l'eau est d'autant plus prolongé que l'eau a parcouru une plus grande partie de son chemin. Nous avons voulu vérifier ces suppositions ayant leur origine dans des expériences de laboratoire et nous avons d'abord mesuré le P.H. pendant le jour de quelques cours d'eau à des endroits de plus en plus éloignés de l'émergence.

Nous avons fait, au mois d'avril 1922, dans le département de l'Aube, un assez grand nombre de déterminations colorimétriques de la réaction de l'eau des sources qui, émergeant du calcaire jurassique coulent abondamment à cette époque de l'année. La plupart des sources que nous avons examinées gagnent les rivières de la contrée par des fossés remplis de plantes très variées (Renoncules, Ombellifères aquatiques, Algues, etc.). L'écoulement était rapide et la température n'était que de quelques degrés au-dessus de zéro. Nous avons toujours trouvé que l'eau sortait de terre avec une réaction sensiblement neutre, son P.H. étant compris entre 7,0 et 7,2 et nous avons constaté, comme nous nous y attendions, que ce P.H. s'élevait rapidement au fur et à mesure que l'on s'écartait de l'émergence, bien que l'écoulement soit très rapide et, par suite, le contact avec les plantes peu prolongé. Voici quelques exemples qui montrent cette alcalinisation progressive :

Petite source sur le bord de la route de Merrey à More. Le ruisseau formé coule dans un fossé contenant beaucoup de plantes aquatiques. Les Spirogyres y sont abondantes. A l'émergence, P.H. = 7,2. — A 38 mètres en aval, P.H. = 7,4. — A 400 mètres en aval, P.H. = 8,0. Il se maintient ensuite constant.

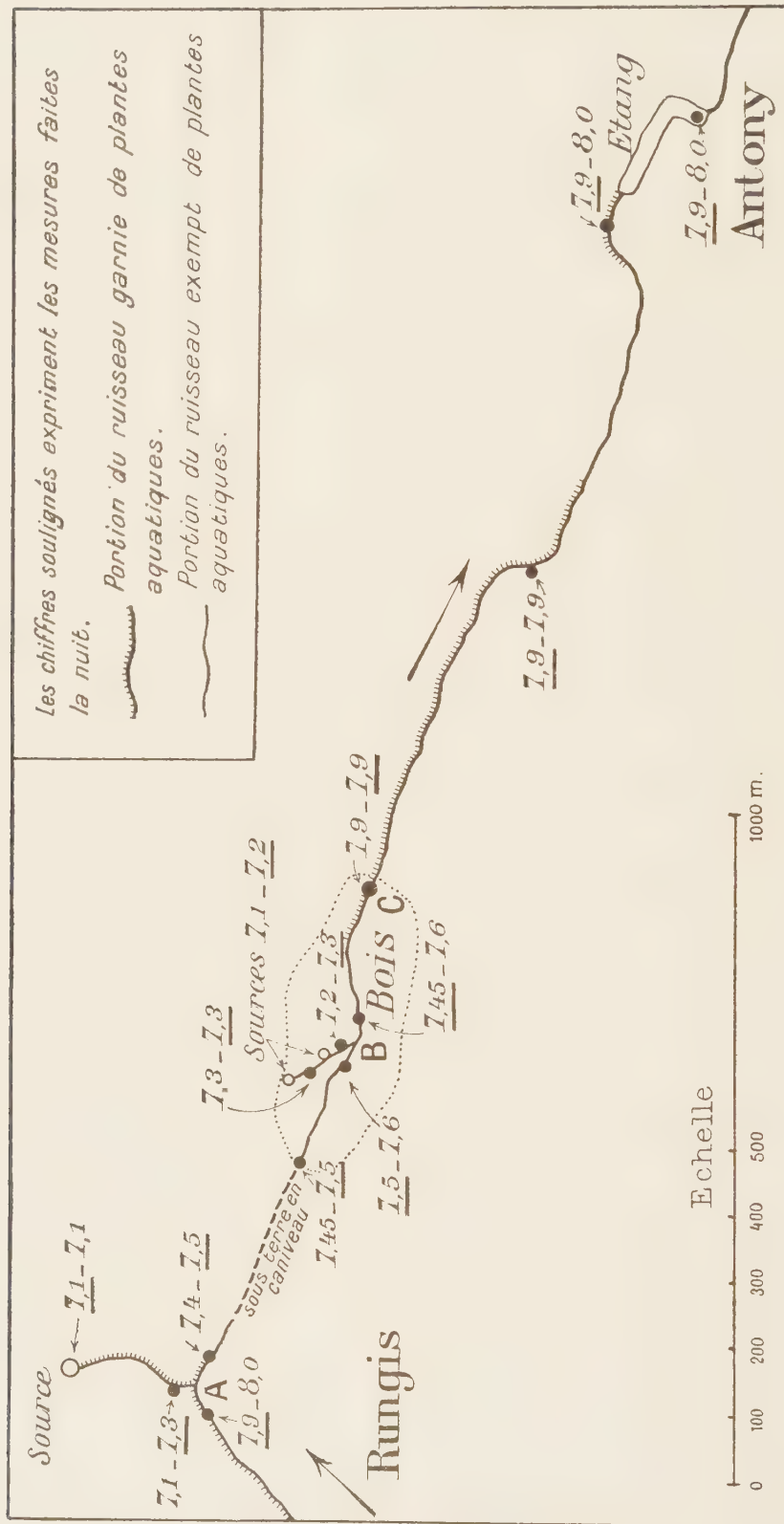
Fontaine de Parmaille, près de Celles-sur-Ource. Le ruisseau coule dans un fossé où abondent les *Sium*, *Carex*, etc..... A l'émergence, P.H. = 7,2. — A 30 mètres en aval, P.H. = 7,3. — A 700 mètres en aval, P.H. = 8,0. Il se maintient ensuite fixe.

Source dite du « Puits de l'Ermite », entre Bar-sur-Seine et Laborde. Le ruisseau formé coule dans des fossés herbus sans plantes aquatiques ni algues. Cette source, en effet, ne donne que pendant peu de temps au printemps, quand il est assez pluvieux. Dans ces conditions, différentes des précédentes, l'alcalinisation est moins rapide. Ce n'est qu'au bout d'environ 1 kilomètre, au moment où le ruisseau va rejoindre la Seine que le P.H. atteint 7,9.

Nous voyons que, d'une manière générale, l'eau de toutes ces sources passe de P.H. = 7,0 à 7,2 à l'émergence à P.H. = 8,0 au moment où les ruisseaux arrivent à la Seine ou à ses affluents de la région (Arce, Ource). La Seine elle-même et les rivières qui s'y jettent (Arce, Ource) possédaient un P.H. voisin de 8,0.

(1) Indiquons, en passant, une de nos expériences qui montre bien l'augmentation progressive de l'alcalinité sous l'influence de l'assimilation chlorophyllienne :

Dans un tube à essais, on met 10 cm³ d'eau de source que l'on additionne de quelques gouttes d'une solution aqueuse de bleu de Thymol, ce qui communique au liquide une légère teinte jaune. On introduit alors un ou deux filaments de spirogyres. A l'obscurité, on n'observe aucune modification de teinte mais, en exposant le tube au soleil, on voit le liquide bleuir progressivement *seulement autour* des filaments de l'algue, indiquant ainsi que c'est seulement au contact de la plante que l'alcalinité augmente.



Ces déterminations montrent bien que le P.H. s'élève au fur et à mesure que le contact de l'eau avec les plantes aquatiques est plus prolongé. Cependant, pour s'assurer que c'est vraiment la fonction chlorophyllienne de ces plantes qui est la cause de cette élévation du P.H. il est indispensable de recommencer ces mesures la nuit, c'est-à-dire quand l'assimilation chlorophyllienne est suspendue. On doit s'attendre à ce que la réaction du ruisseau ne varie plus au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la source. Nous avons choisi, pour cette expérience cruciale un cours d'eau qui prend sa source à Rungis (Seine), et se jette dans la Bièvre à Antony (Seine). Certaines parties de son lit sont abondamment garnies de plantes aquatiques, d'autres en sont dépourvues. Il reçoit quelques petits affluents et traverse un étang assez grand.

Pour résumer nos observations nous donnons une carte de ce ruisseau sur laquelle nous indiquons, aux différents points qui nous ont paru spécialement intéressants, le résultat des mesures de P.H. faites, d'une part entre minuit et 3 heures du matin et, d'autre part, entre 10 heures du matin et midi, au mois de juin. Les chiffres correspondants aux mesures nocturnes sont soulignés sur le graphique.

Les mesures colorimétriques ont été effectuées le jour *in situ*. Il est impossible d'opérer de même la nuit car toute comparaison colorimétrique précise est impossible à la lumière artificielle. Nous avons prélevé de l'eau avec toutes les précautions désirables et nous l'avons conservée dans des tubes de verre neutre bien bouchés. Le P.H. de chaque échantillon a été déterminé quelques heures après, dès que la lumière du jour fut assez intense.

L'examen de la carte montre que nous avons constaté à nouveau que l'eau, qui est neutre à l'émergence s'alcalinise au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la source et tend vers P.H. = 8,0 qu'elle ne dépasse pas, mais on voit que, contrairement à ce que l'on était en droit d'attendre, la réaction de l'eau du ruisseau, en un point donné, varie fort peu de midi à minuit. La différence entre le P.H. diurne et le P.H. nocturne est, au plus, de 0,2, sans que le signe de cette différence, quand elle existe, soit partout le même. Ainsi l'eau de l'affluent qui se jette en A dans le ruisseau principal s'est montrée plus alcaline la nuit que le jour (P.H. de 7,3 et 7,1) tandis que, immédiatement avant son entrée dans l'étang, l'eau du ruisseau avait un P. H. de 8,0 le jour contre 7,9 la nuit.

On voit également que l'alcalinité du ruisseau augmente même quand son lit ne contient aucune plante aquatique. Par exemple, entre l'endroit où il sort du caniveau et le point B, son P.H. passe le jour de 7,45 à 7,6. Cependant, en général, la différence du P.H. entre deux points du ruisseau est plus grande (tant d'ailleurs le jour que la nuit) quand il y a des plantes aquatiques entre ces deux points.

Ces mesures diurnes et nocturnes montrent que l'assimilation chlorophyllienne des plantes aquatiques n'est pas la cause de l'élévation du P.H. de l'eau au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la source puisque cette alcalinisation se produit aussi bien le jour que la nuit. Il faut trouver une autre explication. Voici celle que nous proposons : l'augmentation d'alcalinité de l'eau des cours d'eau est due au départ du gaz carbonique qu'elle a dissous en abondance lorsqu'elle se trouvait sous terre, avant la source. On sait, en effet, que les gaz extraits du sol sont notablement plus riches en CO_2 que l'air atmosphérique. Aussi, à sa source, l'eau est sursaturée en CO_2 par rapport à l'atmosphère et ce gaz s'échappe d'autant plus vite de l'eau que celle-ci est mieux agitée. L'agitation normale, de l'eau, due à sa vitesse d'écoulement, les tourbillons qui se produisent, facilitent ce dégagement et, par suite, élève le P.H. de l'eau, indépendamment des plantes aquatiques. Cependant ces dernières, grâce

à l'obstacle qu'elles constituent, facilitent ce brassage de l'eau et l'on comprend ainsi leur rôle dans l'augmentation de l'alcalinité, indépendamment de leur fonction chlorophyllienne.

Nous avons fait une expérience *in vitro* qui confirme cette explication. Si on enferme dans un grand flacon de verre *neutre* une petite quantité d'eau prise à la source et de P.H. 7,1 et si on la secoue fortement, on constate une forte augmentation de l'alcalinité, le P.H. s'élevant jusqu'à 8,0. Remarquons que cette explication rend du compte du fait que le P.H. ne dépasse pas une certaine valeur bien que les plantes aquatiques continuent à être en contact avec l'eau et que ce P.H. limite soit notablement inférieur au P.H. maximum qu'atteignait l'eau dans les expériences faites *in vitro* de LAPICQUE et M^{lle} KERGOMARD. Le P.H. ne varie plus dès que la proportion de gaz carbonique dissout dans l'eau correspond à sa tension dans l'air. Une fois cet équilibre atteint, la quantité de gaz carbonique de l'eau reste constante, et, par suite, le P.H.

En résumé, l'agitation de l'eau nous apparaît comme la cause principale de son alcalinisation. Les plantes aquatiques interviennent efficacement dans ce phénomène sans que ce soit par leur fonction chlorophyllienne. Nous ne voulons pas dire que cette fonction n'ait rigoureusement aucune influence mais, en général, la quantité de plantes aquatiques contenue dans les cours d'eau est trop petite par rapport au volume de l'eau qui les baigne pour modifier par ce mécanisme la réaction du liquide ambiant. Rappelons que l'eau de mer prête à une remarque analogue et que les variations de P.H. de l'eau littorale, qui est la seule en contact avec une quantité d'algues un peu notable, sont très faibles (1).

Bref, nous voyons que, en général, les animaux d'eau douce, sauf ceux qui se trouvent à proximité d'une source, sont entourés par un milieu qui présente une réaction sensiblement constante. Ce n'est que dans le cas où ils s'approchent d'une source qu'ils traversent des eaux de P.H. notablement différents.

(1) Il serait intéressant de rechercher si les eaux douces stagnantes éprouvent des variations diurnes de réaction.

CHAPITRE III

Influence de la vie des animaux aquatiques sur la réaction de l'eau qui les entoure

I. — Généralités

Nous avons indiqué dans le chapitre précédent que les végétaux aquatiques étaient capables de modifier la réaction de l'eau dans laquelle ils vivaient, soit en l'alcalinisant par suite de leur fonction chlorophyllienne, soit en l'acidifiant par leur respiration. On peut penser de même que les animaux aquatiques ont une influence sur la réaction de l'eau qui les entoure et que l'acide carbonique produit par leur respiration tend à acidifier leur milieu extérieur. C'est ce que nous avons cherché à vérifier. Les expériences ont consisté à placer des Poissons ou des Invertébrés dans une faible quantité d'eau et à voir comment le P.H. de ce liquide variait en fonction du temps.

La technique de ces recherches est très simple. Nous avons utilisé des cristallisoires en verre neutre qui ne modifient pas la réaction des liquides que l'on y conserve. Il n'en est pas de même des récipients en verre ordinaire qui provoquent une augmentation lente du P.H. des liquides acides qui y séjournent, par suite de la combinaison des alcalis de ce verre avec les acides des liquides. Le verre neutre ne présente pas cet inconvénient.

La mesure de la réaction a toujours été faite par la méthode colorimétrique et sur des relèvements de 2 cm³ seulement, afin de diminuer le moins possible le volume du liquide dans lequel l'animal continuait à vivre. Nous avons utilisé des indicateurs de CLARK dissouts dans l'alcool.

Nos recherches se divisent en trois parties : Dans la première nous voyons si les poissons modifient la réaction de l'eau qui les entoure habituellement. Ayant constaté que cette réaction reste fixe, nous sommes amené dans une deuxième partie, à les placer dans l'eau distillée rendue alcaline, Dans une troisième partie, au contraire, les animaux aquatiques utilisés sont entourés par des liquides préalablement acidifiés.

II. — Animaux placés dans leur milieu habituel

Nous n'avons utilisé que des poissons d'eau douce.

Une Épinoche est placée dans 100 cm³ d'eau de source (fournie par la canalisation du

Laboratoire) dont le P.H. était de 7,7. Un Gardon (*Leuciscus rutilus*) est placé dans 200 cm³ de la même eau. Voici les P.H. aux différents instants :

DURÉE DU SÉJOUR	P.H. DE L'EAU CONTENANT LE POISSON	
	Épinoche	Gardon
Début	7,7	7,7
15 minutes	7,7	7,7
1 heure	7,7	7,7
3 heures	7,7	7,7
24 heures	7,7	7,6
2 jours	7,7	7,5
3 jours	7,7	7,6

Ce tableau montre que la réaction du milieu extérieur n'a pas été modifiée ou extrêmement peu, par la respiration du poisson. Ce résultat, assez inattendu, peut s'expliquer facilement : L'eau douce contient en effet une proportion sensible de bicarbonate de chaux (environ 0,3 g. par litre) qui est un tampon puissant. Il n'est donc pas étonnant que la faible quantité de gaz carbonique émise par l'animal n'ait pas modifié la concentration des ions H⁺, puisque la propriété des substances tampons est de s'opposer aux variations de réaction. Pour vérifier que c'est bien à la présence du carbonate de chaux qu'est due la fixité de la réaction, nous avons placé des poissons dans de l'eau distillée dont la réaction avait été rendue égale à celle de l'eau douce, ou même plus alcaline, par des substances ne jouissant pas des propriétés des tampons.

III. — Animaux placés dans de l'eau distillée rendue alcaline

L'eau qui nous a servi dans ces expériences a été fabriquée au Laboratoire par distillation dans un appareil tout en verre d'eau de source additionnée de soude caustique et de permanganate de potassium. L'eau distillée du commerce n'a jamais été employée car on sait que, par suite des traces de cuivre qu'elle contient, elle est toxique pour les poissons, comme l'a montré M^{lle} S. LEDEBT. Dans toutes nos recherches nous avons toujours utilisé uniquement de l'eau préparée dans les conditions que nous venons d'indiquer. Elle était conservée dans des ballons de verre neutre, son P.H. était de 6,0 environ.

Nous avons d'abord placé une Épinoche (1) dans 100 cm³ de cette eau dont le P.H. avait été amené à 7,7 (celui de l'eau douce) par une trace de soude caustique. Dans un autre cristallisateur de même dimension, on introduit la même quantité de liquide mais sans mettre de poisson. Ce témoin a pour but de voir quelle peut être l'amplitude des variations de réaction spontanées pouvant être produites par le gaz carbonique de l'air qui vient neutraliser lentement la petite quantité de soude caustique ajoutée à l'eau distillée.

Le tableau ci-dessous indique les résultats des mesures successives de la réaction.

(1) Avant d'être introduit dans l'eau distillée rendue alcaline, le poisson était lavé avec de l'eau distillée pure, afin d'éliminer l'eau douce qu'il pouvait entraîner.

Cette précaution a toujours été observée pour toutes les autres expériences.

DURÉE DU SÉJOUR	P.H. du liquide contenant le poisson	P.H. du témoin sans poisson
Début	7,7	7,7
5 heures	6,8	7,6
8 heures	6,8	7,6
24 heures	6,8	7,6
48 heures	6,9	7,5

Nous constatons cette fois-ci une variation très notable de la réaction qui, après cinq heures de séjour du poisson était tombée à P.H. = 6,8. Ensuite elle ne s'est plus modifiée. Elle est restée à cette valeur, ou à très peu près. Le P.H. du témoin s'est maintenu à peu près fixe, ce qui nous montre que le poisson est bien la cause de l'acidification de son milieu extérieur. Cette rapidité de changement de réaction du liquide entourant l'Épinoche se comprend facilement quand on pense à la très petite quantité de NaOH qui a été nécessaire pour amener la réaction de l'eau distillée à P.H. = 7,7. Il suffit de très peu de gaz carbonique pour modifier cette réaction. Ce que l'on comprend moins bien, c'est pourquoi l'acidification s'est arrêtée à 6,8 ou 6,9 et n'ait pas augmenté pendant les nombreuses heures qui ont suivi, bien que le poisson ait continué à vivre normalement et, par suite, à dégager du gaz carbonique. Nous reviendrons plus loin sur ce fait que nous expliquerons.

Nous avons fait un assez grand nombre d'expériences analogues, mais dans lesquelles l'alcalinité initiale était beaucoup plus forte et souvent produite par d'autres substances que la soude caustique. Nous avons utilisé d'autres poissons, des Gardons et des Goujons. Nous ne reproduisons que quelques-unes de ces expériences car elles conduisent toutes aux mêmes résultats.

Goujon (*Gobio fluviatilis*) placé dans 150 cm³ d'eau distillée amenée à P.H. = 9,6 par de la soude caustique.

DURÉE DU SÉJOUR	P.H. du liquide contenant le Goujon	P.H. du témoin sans poisson
Début	9,6	9,6
15 minutes	9,4	9,6
30 minutes	9,2	9,6
1 heure	8,6	9,6
1 h. 30	7,7	9,6
2 h. 30	7,2	9,5
24 heures	6,9	8,6
48 heures	6,9	7,4

Ainsi en 2 h. 30 le poisson a abaissé l'alcalinité de son milieu extérieur de P.H. = 9,6 à P.H. = 7,2, alors que le témoin n'a pas varié. La réaction est devenue, au bout de 24 heures égale à P.H. = 6,9 et ne s'est plus modifié ensuite. Bien que l'alcalinité initiale fût bien plus élevée que dans l'expérience précédente (9,6 contre 7,7) la réaction finale est la même : P.H. = 6,9.

Voici maintenant une Épinoche dans 100 cm³ d'eau distillée rendue alcaline par de l'hydrate de magnésie (solution filtrée de magnésie calcinée) P.H. = 10,3.

DURÉE DU SÉJOUR	P. H. du liquide contenant le poisson	P.H. du témoin sans poisson
Début	10,3	10,3
15 minutes	10	10,3
1 heure	9,8	10,3
1 h. 30	9,5	10,3
2 heures	9,3	10,3
15 heures	7,2	8,9
48 heures	7,2	8,6

Le P.H. s'est stabilisé à 7,2.

Nous citerons encore pour terminer deux expériences faites avec de Épinoches placées dans des liquides très fortement alcalins de P.H. = 10,5, cette alcalinité étant produite par de la soude caustique.

DURÉE DU SÉJOUR	P. H. DU LIQUIDE ENTOURANT LE POISSON		P.H. DU TÉMOIN sans poisson
	Épinoche I	Épinoche II	
Début	10,5	10,5	10,5
30 minutes	9,8	9,9	10,4
1 heure	9,0	9,2	10,3
2 heures	7,4	7,6	10,1
3 heures	7,3	7,4	9,8
24 heures	7,2	7,2	8,4
48 heures	7,2	7,2	8,0

La conclusion est la même que précédemment.

Toutes ces expériences nous montrent que, comme l'on pouvait s'y attendre, les poissons placés dans de l'eau rendue alcaline mais ne contenant pas de substances tampons, en diminuent rapidement le P.H. grâce au gaz carbonique dégagé par leur respiration. Mais dès que cette réaction est devenue neutre ou à peu près (P.H. compris entre 6,8 et 7,2), elle ne varie plus, bien que l'animal continue à respirer et, par suite, à émettre du gaz carbonique. On s'attendrait à ce que l'eau devienne progressivement acide. Il n'en est rien. Il faut donc supposer qu'à partir de l'instant où le liquide est redevenu neutre (ou à peu près) le poisson est capable de neutraliser l'action acide du gaz carbonique qu'il continue à dégager. Nous avons pensé que, s'il en était bien ainsi, le poisson devait être également capable de neutraliser l'acidité d'un liquide de faible P.H. Les expériences suivantes ont été entreprises pour vérifier cette hypothèse.

IV. — Animaux placés dans des liquides acides

Nous avons d'abord placé des poissons d'eau douce dans de l'eau distillée acidifiée.

Voici une première série d'expériences dans lesquelles l'acidité était produite par de l'acide phosphorique.

DURÉE DU SÉJOUR	P.H. DU LIQUIDE ENTOURANT LE POISSON				P.H. DU TÉMOIN sans poisson
	Épinoche	Cyprin doré	Goujon	Gardon	
Début	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
1 heure	5,2	5	5,2	4,9	4,7
1 h. 30	5,5	5,2	5,4	5,5	4,7
20 heures	6,6	6,2	6,5	6,2	4,7
24 heures	6,7	6,4	6,6	6,3	4,7
2 jours	6,8	6,4	6,8	6,4	4,7
3 jours	»	6,8	6,9	6,9	4,7
4 jours	»	6,8	6,9	6,9	4,7

Comme on le voit facilement, l'acidité diminue d'abord assez rapidement puis, quand le liquide est devenu à peu près neutre, la réaction se maintient fixe.

Une autre série d'expériences faites avec l'acide acétique comme agent d'acidification confirme la précédente. La durée du séjour a été prolongée jusqu'à 7 jours.

DURÉE DU SÉJOUR	P.H. DU LIQUIDE ENTOURANT LE POISSON				P.H. DU TÉMOIN sans poisson
	Épinoche	Cyprin doré	Goujon	Gardon	
Début	4,8	4,7	4,7	4,8	4,8
1 heure	5,1	4,9	4,8	4,9	4,8
2 heures	5,2	5,2	5,1	5,1	4,8
24 heures	6,7	6,5	6,6	6,6	4,8
2 jours	6,8	6,7	6,8	6,8	4,8
3 jours	morte	6,8	6,8	6,8	4,8
7 jours	»	6,8	6,8	6,8	4,8

Malgré la plus longue durée du séjour la réaction finale est la même que précédemment.

Nous avons voulu étendre ces expériences aux animaux marins et, pour cela, nous les avons placés dans de l'eau de mer acidifiée par de l'acide azotique. Ce mélange ne contient plus les substances tampons (carbonates) qui existent ordinairement dans l'eau de mer car l'acide azotique les a transformées en azotates, sels qui ne possèdent pas la propriété de s'opposer aux variations de réaction.

Nous avons utilisé des poissons : *Cottus bubalis* et *Lepadogaster Gouanii*, un Crustacé : *Platycarcinus pagurus*, un Ver : *Nereis Dumerilli*.

Avant d'être mis en expérience, les animaux étaient longuement lavés avec de l'eau de mer acidifiée, afin de les débarrasser de l'eau de mer ordinaire qui les mouillait et qui aurait

aussitôt neutralisé la petite quantité d'acide contenue dans l'eau de mer acidifiée des cristallisoirs dans lesquels on les plaçait pour les expériences.

Un témoin ne contenant pas de poisson a gardé la même réaction pendant toute la durée des expériences.

DURÉE DU SÉJOUR	P.H. DES LIQUIDES ENTOURANT LES ANIMAUX			
	<i>Collus bubalis</i>	<i>Lepadogaster</i>	<i>Platycarcinus</i>	<i>Nereis</i>
Début	4,5	4,5	4,5	4,5
30 minutes	4,5	4,5	5,6	4,6
2 h. 30	4,6	4,5	6,3	5,2
3 h. 30	4,8	4,6	6,4	5,5
6 heures	5,2	4,9	6,4	5,8
20 heures	5,7	5,5	6,8	6,2
24 heures	6,0	5,8	6,9	6,5
2 jours	6,1	6,2	7,0	6,5
3 jours	6,1	6,3	7,1	6,5
4 jours	6,3	6,5	7,4	6,7
5 jours	mort	retiré	mort	6,7

Ce tableau montre que, comme le font les poissons d'eau douce, les animaux marins sont capables de ramener vers la neutralité la réaction du liquide qui les entoure, quand celui-ci, bien entendu, ne contient pas de substances tampons.

V. — Conclusion

Toutes ces expériences nous montrent que les animaux aquatiques tendent toujours à ramener à la neutralité la réaction primitivement alcaline ou acide du liquide qui les entoure, quand des substances tampons ne s'opposent pas à ces variations de réaction.

Il nous reste à expliquer ce retour à la neutralité. Nous avons déjà dit que l'on comprenait facilement qu'un animal puisse diminuer le P.H. de son milieu extérieur par suite du dégagement d'acide carbonique produit par sa respiration, mais on voit moins bien comment il peut combattre l'acidité de l'eau qui le baigne. Nous pensons que ce fait peut s'expliquer en se rappelant le résultat d'expériences entreprises jadis par JOLYET et REGNARD (1) sur la respiration des animaux aquatiques. Au cours de leurs recherches ils découvrirent que, quand on abandonne dans un vase rempli d'eau et bien ventilé par un barbotage d'air, un certain nombre de poissons, on voit que l'eau où ils étaient placés, se charge rapidement de carbonates. Après avoir dégagé tous les gaz dissouts dans cette eau par le vide et l'action de la chaleur, on produit encore un abondant dégagement de bulles gazeuses si on ajoute quelques gouttes d'acide. REGNARD pensa que ces carbonates étaient excrétés par la branchie. Il montra d'abord que la quantité de gaz carbonique éliminée sous forme de carbonate augmentait avec l'intensité des échanges respiratoires. C'est ainsi qu'un poisson qui, à la température de 10°, excréta en vingt-quatre heures 840 cm³ d'acide carbonique libre et 30 cm³ d'acide combiné,

(1) REGNARD. *La vie dans les eaux*, p. 391.

éliminait à 25° 1.440 cm³ d'acide libre et 248 cm³ d'acide combiné et à 30° 2.664 cm³ d'acide libre et 880 cm³ d'acide combiné.

Pour montrer d'une façon plus complète que ces carbonates provenaient de la branchie et non des déjections intestinales, REGNARD plaça une Anguille dans un tube en U renversé. La tête de l'Anguille plongeait seule dans un vase rempli d'eau, le reste du corps et l'anus étaient dans un autre vase. Dans ces conditions, REGNARD constata que 172 cm³ d'acide carbonique, sortaient de la branchie à l'état de carbonate, ce qui lui fit dire que, « à côté de la respiration branchiale gazeuse, il existe une vraie respiration *solide* par la sortie, par diffusion, des carbonates contenus dans le sang ».

Nous pensons que c'est cette respiration solide qui est la cause de la neutralisation de l'acidité que l'on a pu communiquer au liquide qui entoure le poisson, les carbonates excrétés se combinant avec l'acide du milieu extérieur

On peut supposer que, normalement, les quantités de gaz carbonique et des carbonates dégagées par le poisson sont dans un rapport tel que leur dissolution produise un liquide neutre. On sait en effet que le P.H. d'une solution mixte d'un acide faible et d'un de ses sels dépend seulement, en première approximation, du rapport $\frac{\text{acide}}{\text{sel}}$ (1). Cette solution possède les propriétés des tampons. C'est pourquoi, que l'animal soit plongé dans un liquide alcalin ou, au contraire, dans un liquide acide, il finit toujours par en ramener la réaction vers P.H. = 7,0, qui est celle du système carbonates, acide carbonique, que produit sa respiration. Cette réaction, une fois réalisée, se maintiendra. C'est ce que nous avons été étonné de constater quand nous avons placé des poissons dans de l'eau alcaline. Si ceux-ci ne dégageaient que du gaz carbonique, le P.H. aurait dû continuer à descendre au-dessous de 7,0. Il ne l'a pas fait parce que la petite quantité de carbonates éliminés en même temps que l'acide libre constitue un système dont le P.H. est de 7,0.

Telle est l'explication que nous proposons pour rendre compte du résultat de nos expériences. Il est d'ailleurs fort possible que l'élimination des carbonates soit accrue quand le liquide extérieur est acide. C'est ce qu'il serait facile de vérifier. On peut également penser que les déjections intestinales et cutanées jouent un rôle dans la neutralisation du milieu extérieur.

(1) Dans le cas de l'acide carbonique le phénomène est un peu plus compliqué à cause de la bibasicité de l'acide.

CHAPITRE IV

Influence de la réaction du milieu extérieur sur la vie des poissons

I. — Généralités. — Historique

C'est un fait constaté depuis longtemps que la vie des microorganismes n'est possible que si la réaction de leur milieu de culture est comprise entre certaines limites d'acidité et d'alcalinité et depuis que l'on sait mesurer exactement la concentration en ions hydrogène des solutions, beaucoup de travaux ont été entrepris pour déterminer le P.H. qui convient le mieux au développement de ces êtres unicellulaires. On a cherché aussi entre quelles valeurs extrêmes de ce P.H. leur vie pouvait se maintenir. Comme ces valeurs sont différentes d'une espèce à une autre, on a mis cette différence à profit pour séparer les divers microorganismes.

Ces recherches n'ont pas été, à notre connaissance, étendues aux animaux aquatiques supérieurs et, si l'on a remarqué depuis longtemps que leur vie était incompatible avec la présence d'une quantité même assez faible d'acide ou d'alcali dans le liquide qui les entoure, cette question n'a pas fait l'objet d'études approfondies.

En 1880, CH. RICHET a déterminé quelle était la toxicité de quelques acides et de quelques bases pour les Ecrevisses. Il constata qu'à concentration pondérale égale, les acides minéraux entraînent la mort de ces Crustacés beaucoup plus rapidement que les acides organiques. De tous les acides minéraux, c'est l'acide azotique qui est le plus toxique. Il l'est 5 fois plus que l'acide sulfurique et 25 fois plus que l'acide acétique. L'étude des différentes bases montra à CH. RICHET la grande toxicité de l'ammoniaque qui est beaucoup plus funeste à ces animaux que des poisons comme la strychnine. Alors que les Ecrevisses vivent plusieurs heures dans de l'eau contenant 2 g. du chlorhydrate de cet alcaloïde par litre, elles succombent en moins de deux heures quand cette quantité est remplacée par 0,1 g. d'ammoniac. A poids égal, la baryte se montra la moins toxique des bases. Viennent ensuite la soude et la chaux, puis la potasse.

CH. RICHET étudia ensuite la toxicité de ces substances non plus en fonction de leur concentration pondérale, mais en fonction de leur capacité de saturation.

Pour que la mort des animaux arrive à peu près dans le même temps, il faut que la teneur en acide de leur milieu extérieur corresponde par litre à 0,5 g. de la CaO pour l'acide azotique, 1 g. de CaO pour les acides chlorhydrique et sulfurique, 4 g. pour l'acide oxalique et enfin 12 g. pour l'acide acétique. Pour les bases, il faut que la teneur soit équivalente à 0,20 g. de CaO pour l'ammoniaque et 0,75 pour la potasse. Les autres hydrates NaOH, Ca(OH)², Ba(OH)², ont le même pouvoir toxique. L'auteur pense que ces différences de toxicité tiennent probablement à des différences d'absorption par l'appareil branchial.

YUNG constata à la même époque que « les Céphalopodes sont extrêmement sensibles à l'action des acides minéraux. Là où le papier de tournesol annonce à peine la présence d'un

acide, un jeune Poulpe ou un jeune Calmar manifeste immédiatement de la douleur ». Il observe que les acides provoquent une accélération des mouvements respiratoires. Ses conclusions confirment exactement celles de CH. RICHET : Toxicité des acides minéraux plus grande que celle des acides organiques, toxicité très élevée de l'ammoniaque qui, à la dose de 1 g. par litre tue presque immédiatement un jeune Poulpe. YUNG conclut en disant que l'action néfaste des acides et des bases dépend non seulement de leur concentration, mais encore de leur nature. Il n'est peut-être pas inutile de remarquer qu'à l'époque de ces recherches (1880), la notion d'acidité et de basicité était très vague, la théorie des ions n'ayant pas encore été formulée.

WELLS chercha à savoir quelle était la réaction de leur milieu extérieur que préféraient les poissons. Pour cela il les place dans une cuve en verre dans laquelle circulent lentement deux solutions, l'une au-dessus de l'autre. Elles ont des réactions différentes. L'une, par exemple est acide, l'autre alcaline. Elles ne se mélangent qu'incomplètement et il en résulte que la réaction varie régulièrement depuis le fond de la cuve jusqu'à la surface libre de la solution supérieure. On observe à quel niveau les poissons se maintiennent et on détermine la réaction du liquide prélevé à ce niveau. WELLS exprime cette réaction non en P.H., comme on pourrait s'y attendre, mais en concentration moléculaire (normalité). Il trouve ainsi que les poissons d'eau douce fuient la neutralité en faveur d'une légère acidité ou alcalinité. Leur choix habituel est une faible acidité correspondant à une solution 0,00005 N de $\text{SO}_4 \text{H}^2$ ou 0,0001 N de CO_2 . Les diverses espèces choisissent des acidités différentes. Ainsi le *Blue gills* se tient de préférence au niveau correspondant à une teneur en CO_2 de 1 à 2 cm^3 par litre, tandis que les Crappies préfèrent une acidité plus élevée, 4 à 6 cm^3 de CO_2 par litre. Il détermine ensuite la durée de survie du *Blue gills* dans des solutions d'acide sulfurique dans l'eau distillée. Elle est de 3 h. 30 à la concentration de 0,001 N et s'élève à 60 heures quand cette concentration devient 0,00015 N. Il cherche également quelle est la toxicité des solutions alcalines mais quand la survie est longue, les résultats sont troublés par le fait que l'alcalinité primitive fait place peu à peu à une légère acidité provenant du dégagement du gaz carbonique par le poisson. Les sels ammoniacaux retiennent son attention. Il constate que leur toxicité est très différente selon que la solution en est faite dans l'eau douce ou dans l'eau distillée. A la même concentration moléculaire, le chlorure, le sulfate et le nitrate d'ammonium ont, à très peu près, la même toxicité, mais tandis que la survie des poissons est de 16 jours quand ces sels sont dissous dans l'eau distillée, elle s'abaisse à 4 heures quand ils le sont dans l'eau douce. Il pense que cette différence provient de ce que, dans l'eau douce, les sels ammoniacaux font double décomposition avec le carbonate de chaux pour donner du carbonate d'ammonium, sel qui serait beaucoup plus nocif que les chlorure, sulfate et azotate d'ammonium. Il vérifie en effet que le carbonate d'ammonium dissout à la même concentration moléculaire dans l'eau distillée que le sulfate dans l'eau douce (0,01 N) est aussi toxique que ce dernier sel dans ce solvant. Enfin la toxicité du sulfate d'ammonium dissout dans l'eau douce disparaît si l'on transforme au préalable les carbonates de cette eau en sulfate. L'explication proposée semble donc vérifiée.

A notre avis les expériences de WELLS seraient encore plus intéressantes si l'auteur avait mesuré la réaction non seulement d'après la normalité de l'acide ou de la base ajoutés, mais encore par la concentration des ions hydrogène.

Nous avons entrepris une série d'expériences afin de voir comment variait la durée de survie des poissons lorsqu'on modifiait la réaction de leur milieu extérieur, celle-ci étant exprimée en P.H. Nous avons cherché si, à concentration en ions H^+ égales les différents

acides et les différentes bases présentait des toxicités analogues. Les recherches de CH. RICHTER nous ont fait penser en effet que, si les acides organiques sont, à concentration moléculaire égale, notablement moins toxiques que les acides minéraux, cela tenait à ce que la concentration en ions H^+ de leurs solutions était beaucoup plus faible, ces acides organiques étant moins dissociés que les acides minéraux.

Nous nous sommes servi pour ces recherches de l'Épinoche (*Gasterosteus leiurus*). Nous avons d'abord étudié l'action de quelques acides, puis ensuite celle des bases alcalines, parmi lesquelles l'ammoniaque.

II. — Toxicité de quelques acides

Les expériences ont consisté à placer des Épinoches dans de l'eau distillée (1) dont le P.H. avait été abaissé à l'aide de l'acide que l'on voulait étudier et à noter la durée de survie du poisson. La quantité d'acide, compatible avec la vie, est toujours faible. Il en résulte que, à moins de placer l'animal dans un très grand volume de liquide, le poisson tend à ramener le P.H. de son milieu extérieur vers 7,0 comme nous l'avons montré au chapitre précédent. Or il importe que la réaction se maintienne constante pendant toute la durée de l'expérience. Nous avons donc essayé de stabiliser le P.H. et, dans ce but, nous avons ajouté, à la solution de l'acide utilisé, une proportion de son sel de sodium telle que sa concentration soit $\frac{N}{50}$ par rapport au sodium. On sait, en effet, que les sels très dissociés des acides faibles jouent le rôle de substances tampons vis-à-vis de l'acide du sel. Le P.H. de la solution mixte d'acide et de sel est fonction, non de la quantité totale d'acide, mais du rapport $\frac{\text{acide}}{\text{sel}}$. Cet effet tampon n'est sensible que pour des P.H. voisins de ceux qui s'expriment par le même nombre que le logarithme de la constante de dissociation de l'acide. Dans nos expériences cet effet tampon n'a pas toujours été suffisant, surtout lorsque nous employions des acides fortement dissociés. La zone d'acidité dans laquelle cet effet se manifeste correspond à des P.H. qui ne permettent que des survies très courtes. Dans ce cas, nous avons mesuré très souvent la réaction du liquide au cours de l'expérience et dès que nous constatons que le P.H. s'était modifié, nous remplaçons ce liquide par un nouveau volume de la même solution au même P.H. Nous faisons ce changement aussi souvent qu'il était nécessaire et dans tous les cas, le P.H. du liquide était le même au moment de la mort du poisson qu'au début de l'expérience.

Le liquide qui entourait le poisson n'était donc pas constitué par de l'eau distillée dont le P.H. avait été abaissé par l'acide étudié. Il contenait en outre, à la concentration $\frac{N}{50}$ (par rapport au sodium) le sel de sodium de l'acide.

Les acides utilisés sont les suivants :

Acide phosphorique.

Acide chlorhydrique.

Acide glycérophosphorique.

Acide tartrique.

Acide lactique.

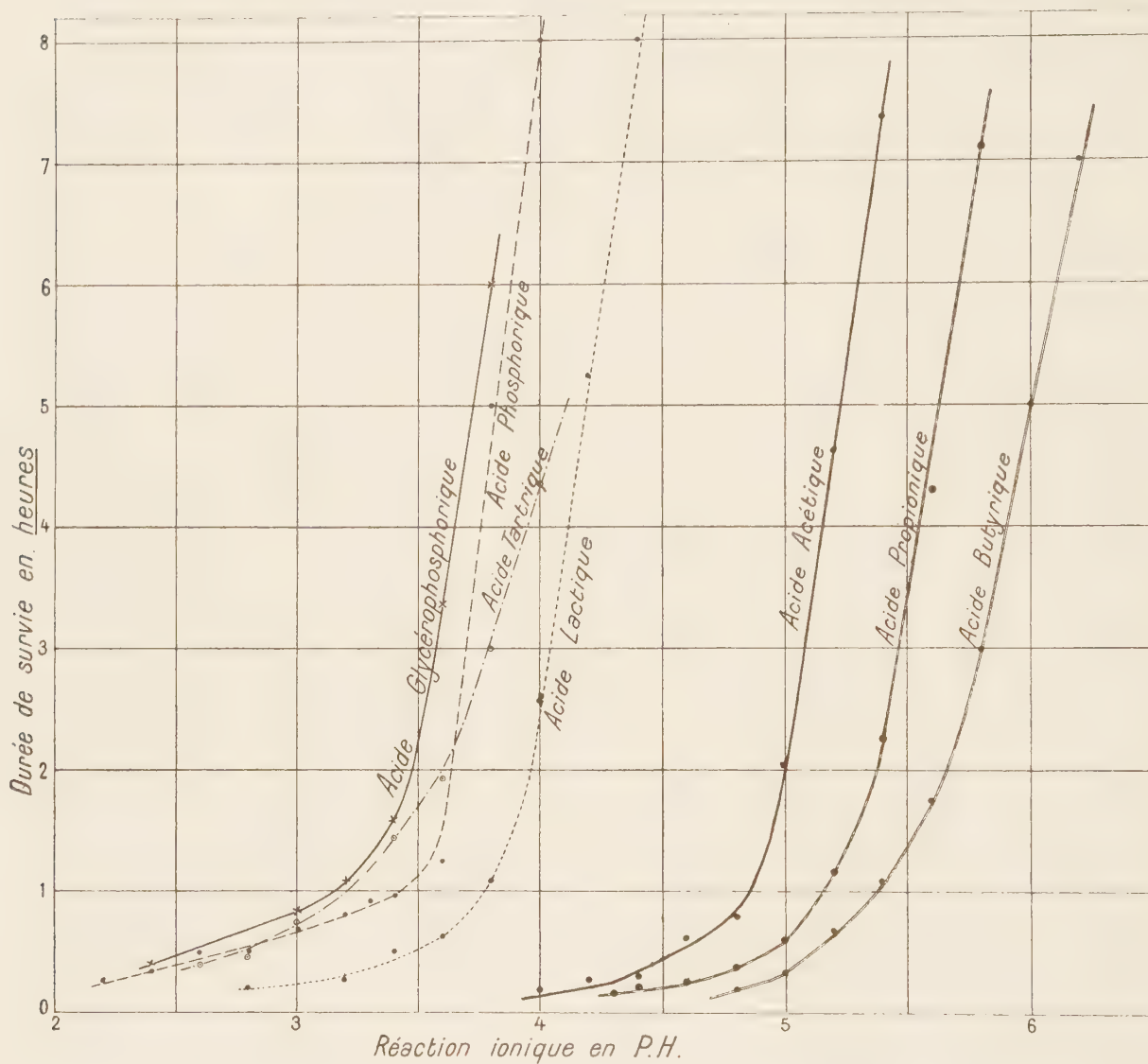
Acide acétique.

Acide propionique.

Acide butyrique.

(1) Comme dans les recherches précédentes, cette eau distillée était préparée au Laboratoire dans des appareils de verre.

Chaque poisson est placé, au sortir de l'aquarium et après lavage à l'eau distillée, dans 100 cm³ de liquide et l'on observe la durée de survie dans chaque cas. Les tableaux et les



courbes ci-joints résument ce travail : chacun des résultats indiqués a été établi à la suite de plusieurs expériences faites dans les mêmes conditions; la durée de survie est d'ailleurs très sensiblement la même pour plusieurs individus traités d'une façon identique.

ACIDE PHOSPHORIQUE		ACIDE CHLORHYDRIQUE	
P.H.	DURÉE DE SURVIE	P.H.	DURÉE DE SURVIE
2,2	0 h. 15 m.	2,6	30 m.
2,4	20	2,8	33
2,6	30	3,0	40
2,8	30		
3,0	40		

ACIDE PHOSPHORIQUE		ACIDE CHLORIDRIQUE	
P.H.	DURÉE DE SURVIE	P.H.	DURÉE DE SURVIE
3,2	47		
3,3	55		
3,4	57		
3,6	1 15		
3,8	5		
4,0	8		
ACIDE GLYCÉROPHOSPHORIQUE		ACIDE LACTIQUE	
P.H.	DURÉE DE SURVIE	P.H.	DURÉE DE SURVIE
2,4	0 h. 20 m.	2,8	0 h. 12 m.
3,0	47	3,2	17
3,2	1 10	3,4	30
3,4	1 35	3,6	37
3,6	3 20	3,8	1 5
3,8	6	4,0	2 35
		4,2	5 15
		4,4	8
ACIDE TARTRIQUE		ACIDE ACÉTIQUE	
P.H.	DURÉE DE SURVIE	P.H.	DURÉE DE SURVIE
2,6	0 h. 21 m.	4,0	0 h. 11 m.
2,8	28	4,2	15
3,0	45	4,4	18
3,4	1 25	4,6	37
3,6	1 55	4,8	48
3,8	3	5,0	2 5
4,0	4 20	5,2	4 40
		5,4	7 20
ACIDE PROPIONIQUE		ACIDE BUTYRIQUE	
P.H.	DURÉE DE SURVIE	P.H.	DURÉE DE SURVIE
4,3	0 h. 9 m.	4,6	0 h. 9 m.
4,4	12	4,8	12
4,6	14	5,0	20
4,8	22	5,2	38
5,0	39	5,4	1 5
5,2	1 10	5,6	1 45
5,4	2 15	5,8	3
5,6	4 20	6,0	5
5,8	7 7	6,2	7

Comme le montre l'examen de ces documents, la durée de survie est très différente pour un même acide suivant le P.H. : elle croît lentement d'abord puis très rapidement quand la concentration en ions H^+ diminue. Toutes les courbes ont très sensiblement la même allure. Mais en outre, suivant l'acide utilisé, la durée de vie varie dans une grande mesure pour les mêmes valeurs du P.H., et telle concentration en ions H^+ qui permet la vie pendant plusieurs heures lorsqu'elle est due aux acides glycérophosphorique, phosphorique, chlorhydrique ou tartrique entraîne la mort en quelques minutes si elle est obtenue par l'acide acétique ou ses homologues. Ainsi pour P.H. = 4, les Epinoches vivent plus de 8 heures dans les acides glycérophosphorique, phosphorique et chlorhydrique, 4 h. 20 dans l'acide tartrique, 2 h. 35 dans l'acide lactique, 11 minutes seulement dans l'acide acétique et moins encore dans les acides propionique et butyrique.

La plus ou moins grande concentration en ions H^+ n'est donc pas seule cause de la mort des Epinoches dans les solutions acidifiées : la nature de l'acide intervient également, et dans une très grande mesure.

Nous pouvons remarquer que, tandis que CH. RICHERT avait constaté que, à poids égal, l'acide acétique était beaucoup moins toxique que les acides minéraux, au contraire, à acidité ionique égale, l'acide acétique est beaucoup plus rapidement mortel que les acides minéraux.

A P.H. égal, la toxicité des acides gras augmente avec le poids moléculaire.

D'une manière générale, on constate que les acides fortement dissociés, comme les acides chlorhydrique, phosphorique et glycérophosphorique sont beaucoup mieux supportés que les acides faiblement ionisés. Il n'est pas sans intérêt de remarquer que la quantité d'acide nécessaire pour obtenir un P.H. donné, est beaucoup plus considérable lorsqu'on emploie un acide faiblement dissocié au lieu d'un acide fort. C'est probablement une des raisons pour lesquelles, à P.H. égal, les acides faibles comme les acides gras sont plus toxiques que les acides forts.

III. — Toxicité de quelques bases

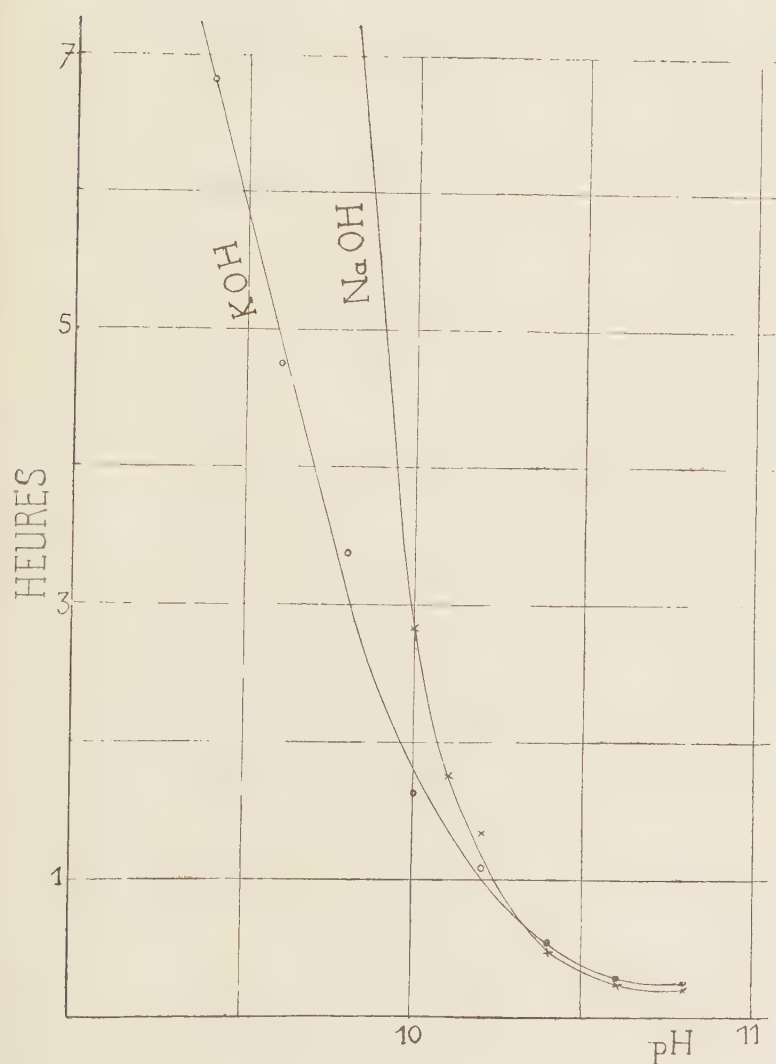
Nous n'avons étudié jusqu'à présent que la soude, la potasse et l'ammoniaque (1). Comme dans nos expériences sur les acides, nous avons dû stabiliser le P.H. de l'eau distillée rendue alcaline. Nous l'avons additionnée, dans ce but, dans la proportion $\frac{N}{50}$ du bicarbonate du métal dont nous utilisons l'hydrate, si bien qu'en réalité c'est plutôt la toxicité du mélange carbonate neutre-bicarbonate et carbonate neutre-base caustique que nous avons étudiée.

Dans le cas de l'ammoniaque, nous avons utilisé comme tampon le nitrate d'ammonium, les sels fortement dissociés des bases faibles constituant avec la base libre un système tampon. Pour les faibles alcalinités, ce tampon est peu efficace et nous avons dû renouveler les liquides entourant le poisson pour que celui-ci ait un milieu extérieur de même P.H. pendant la durée de l'expérience. Voir nos résultats au premier tableau ci-contre.

On voit que la potasse, qui paraît un peu moins toxique que la soude pour les P.H. élevés, lui devient au contraire nettement plus toxique quand l'alcalinité est plus faible. Les Epinoches, qui survivent plus de 7 heures dans un milieu de P. H = 9,8 quand cette alcalinité est produite par de la soude, meurent à 2 heures environ quand elle est due à la potasse. Ce résultat est conforme à celui obtenu jadis par CH. RICHERT, qui vit, qu'à concentration moléculaire égale, la potasse était plus nocive que la soude.

(1) Ces expériences, encore inédites, ont été faites en collaboration avec M^{lle} GUEYLARD.

SOUDE CAUSTIQUE		POTASSE CAUSTIQUE	
P.H.	DURÉE DE LA SURVIE	P.H.	DURÉE DE LA SURVIE
10,8	0 h. 13 m.	10,8	0 h. 18 m.
10,6	15	10,6	20
10,4	29	10,4	38
10,2	1 22	10,2	1 6
10,1	1 42	10,1	»
10,0	2 48	10,0	1 38
9,8	9 10	9,8	2 7
		9,3	3 53
		9,4	6 50



AMMONIAQUE	
P.H.	DURÉE DE SURVIE
9,0	0 h. 13 m.
8,8	16
8,7	20
8,6	21
8,4	31
8,3	35
8,0	47
7,8	1 0
7,5	2

Ce tableau montre que l'ammoniaque est beaucoup plus toxique que les bases précédentes.

On peut d'ailleurs envisager ce tableau comme représentant la toxicité du nitrate d'ammonium à la concentration $\frac{N}{50}$ en fonction du P.H., ce P.H. étant produit par de l'ammoniaque. La toxicité de ce sel augmente à mesure que l'alcalinité s'accroît. Nous pensons que ce résultat explique le fait observé par WELLS, à savoir que les sels neutres ammoniacaux, dissouts dans l'eau douce étaient beaucoup plus toxiques que lorsqu'ils étaient dissouts à la même concentration dans l'eau distillée. Cela tient d'après nous, à ce que la solution dans l'eau distillée est acide tandis qu'au contraire, l'eau douce est alcaline (P.H. souvent voisin de 8,0). Comme nous venons de voir que la toxicité de ces sels dépend de la réaction, le résultat obtenu par WELLS est expliqué simplement, sans faire appel à une double décomposition hypothétique entre ces sels et le bicarbonate de chaux.

C'est d'ailleurs un fait général, observé et mis à profit par P. PORTIER et LOPEZ-LOMBA, que la toxicité des différents poisons augmente beaucoup quand ils agissent en milieu alcalin.

Il se dégage de toutes ces expériences que la toxicité des acides et des bases ne dépend pas uniquement de la concentration des ions H^+ ou OH qu'ils produisent. La nature de ces acides et de ces bases joue un rôle prépondérant dans cette toxicité.

CHAPITRE V

Réaction ionique du sang et des tissus de quelques animaux aquatiques

I. — Généralités

Si la réaction ionique du sang des animaux supérieurs, particulièrement des Mammifères, a fait l'objet d'un très grand nombre de recherches et est maintenant bien connue, par contre celle du milieu intérieur des autres animaux a été beaucoup moins étudiée. Tout récemment, la réaction du sérum des Oiseaux a été mesurée par ISALBERTI, mais on ne possède encore que de très rares documents sur celle du sang des Invertébrés. C'est pourquoi il nous a paru intéressant de déterminer le P.H. du milieu vital des Invertébrés aquatiques que nous avons utilisés au cours de nos recherches. Nous avons comparé cette réaction sanguine à celle du milieu extérieur, eau de mer ou eau douce. En outre nous, avons cherché quel pouvait être le P. H. des tissus de ces animaux, bien que ce P.H. ne soit pas susceptible d'une mesure aussi précise que celle du sang.

II. — Réaction du sang

Nous avons mesuré cette réaction le plus souvent par la méthode colorimétrique mais nous avons plusieurs fois confirmé les résultats qu'elle nous fournissait par des déterminations électrométriques faites suivant la technique d'HASSELBACH dont nous avons déjà parlé.

Voici comment nous utilisons la méthode colorimétrique :

Le sang, recueilli comme nous l'avons indiqué dans la première partie de cet ouvrage, était employé, soit directement, soit après dilution avec un ou deux volumes d'eau distillée privée d'air par une ébullition préalable. La détermination colorimétrique se faisait immédiatement après la prise du sang afin de réduire au minimum les échanges de gaz (CO^2 et O) entre le liquide à étudier et l'atmosphère. Cette condition doit être réalisée le plus exactement possible car les échanges de gaz n'ont pas simplement l'inconvénient très grave de modifier la réaction du liquide qui tend à devenir plus alcalin par suite du départ du gaz carbonique mais encore de donner au sang des Crustacés et des Céphalopodes une forte coloration bleue provenant de la combinaison de l'oxygène de l'air avec l'hémocyanine (oxyhémocyanine). Cette coloration trouble les mesures colorimétriques et les rend moins précises car on est obligé, dans ce cas, de donner aux solutions de comparaison, de P.H. connus, la même couleur que celle présentée par le liquide dont on veut mesurer la réaction. Cette égalité de teinte n'est pas toujours facile à réaliser. On emploie dans ce but des colorants ne virant pas. Lorsque les solutions étalons et le liquide étudié ont la même couleur, on les additionne alors de l'indicateur choisi et on compare la coloration du tube contenant le liquide dont on détermine la réaction à celle des solutions étalons. Cette coloration préalable des solutions de comparaison diminue la précision. C'est pourquoi il faut chercher à l'éviter.

Le sang des Crustacés qui n'a pas été agité au contact de l'air ne présente en général qu'une teinte bleue très pâle par réflexion. Par transparence, cette teinte s'atténue et devient négligeable surtout si le sang a été dilué. Il est alors inutile de colorer les solutions étalons. Le sang du *Carcinus maenas* présente souvent une couleur rougeâtre ou brune qui provient d'un pigment qu'il contient et dont la couleur est permanente et ne dépend pas de phénomènes d'oxydation. Lorsque l'on utilise le sang d'individus contenant ce pigment, il est nécessaire de communiquer la même teinte aux solutions de comparaison. Nous avons employé dans ce but le jaune naphтол, le brun Bismark, le ponceau de Xylidine et le bleu de méthylène.

Le sang des Céphalopodes présentait toujours une coloration bleue assez notable. Ce sang est, en effet, très riche en hémocyanine et il bleuit aussitôt qu'il arrive au contact de l'air, ce qui est inévitable avec la façon dont nous le prélevons. Nous avons dû colorer les solutions étalons chaque fois que nous faisons une mesure de son P.H. Nous avons employé le bleu de méthylène associé au brun de Bismark et à l'encre de Chine.

Le sang de l'Anodonte, de l'Etoile de mer et le liquide coelomique de l'Arénicole sont incolores.

Nous avons utilisé comme indicateurs le rouge de phénol et le rouge de crésol et, comme solutions de comparaison, le mélange des phosphates de SORENSEN et le mélange borate-acide borique de PALITSCHZ. Il a été tenu compte de l'erreur de sels qui est de deux unités de la première décimale pour une salinité de 30 ‰

Voici maintenant nos résultats. Les mesures électrométriques sont en italiques (tableau, p. 163). Elles sont, comme on le voit en bon accord avec les déterminations colorimétriques.

Nous estimons que la précision est d'une unité de la première décimale.

Il ressort de ce tableau que la réaction ionique du sang des Crustacés et des Mollusques correspond à un P.H. de 7,7 à 7,8. Elle est donc plus alcaline que celle du sang des Mammifères dont le P.H. est voisin de 7,4. Nous remarquons que la réaction sanguine des Crustacés marins et des Crustacés d'eau douce est la même bien que l'eau de mer ait pour P.H. 8,15 et l'eau douce 7,7. Il en est de même pour les Mollusques. Le milieu intérieur des Céphalopodes et celui de l'Anodonte (1) possède la même réaction bien que ces animaux aient des habitats différents. Nous avons voulu voir si cette analogie de réaction sanguine s'étendait aux Mollusques aériens et, dans ce but, nous avons mesuré celle de l'Escargot (*Helix pomatia*). Nous l'avons trouvée égale à P.H. = 7,8 (2), c'est-à-dire identique à celle des autres Mollusques. Il résulte de ces déterminations que la réaction ionique du sang des Crustacés et des Mollusques paraît être à peu près la même pour toutes les espèces et qu'elle ne dépend pas de la nature du milieu extérieur.

Nous voyons que les Echinodermes et les Vers ont un milieu intérieur bien moins alcalin que celui des animaux précédents, presque neutre. Cette différence tient sans doute à ce que le milieu intérieur de ces Invertébrés est constitué par de l'eau de mer à peu près pure, c'est-à-dire une solution ne contenant que très peu de substances tampons. Le gaz carbonique dégagé par la respiration des tissus que baigne ce milieu intérieur suffit à en abaisser le P.H. vers 7,3, alors que celui de l'eau de mer est 8,15. Le sang des Crustacés et des Mollusques possède au contraire une composition chimique qui diffère sensiblement de celle de l'eau de mer. C'est ainsi que nous avons vu qu'il contenait moins de chlorure de sodium. Nous sommes maintenant amené à penser qu'il renferme des substances tampons plus efficaces que celles

(1) DAMBOVICEANU indique comme P.H. du sang de l'Anodonte 7,85.

(2) La réaction ionique du sang de l'Escargot est la même que l'animal soit en activité ou en hibernation. Ce fait a été constaté avant nous par DAMBOVICEANU.

INVERTÉBRÉS MARINS	P.H. DU MILIEU INTÉRIEUR
Crustacés	
<i>Maia squinado</i>	7,7 7,8
<i>Platycarcinus pagurus</i>	7,7 7,7
<i>Carcinus mœnas</i>	7,7 7,8 7,7
<i>Portunus puber</i>	7,8 7,7
<i>Palinurus vulgaris</i>	7,7
Céphalopodes	
<i>Sepia officinalis</i>	7,8 7,7
<i>Octopus vulgaris</i>	7,8
Echinodermes	
<i>Asterias rubens</i>	7,4 7,3
Vers	
<i>Arenicola piscatorum</i>	7,2 7,3

Le P.H. de l'eau de mer était de 8,15.

INVERTÉBRÉS D'EAU DOUCE	P.H. DU MILIEU INTÉRIEUR
Crustacés	
<i>Astacus fluviatilis</i>	7,7 7,7 7,8 7,7
<i>Telphusa fluviatilis</i>	7,9 7,8 7,
Mollusques	
<i>Anodonta cygnea</i>	7,8 7,8

Le P.H. de l'eau douce était de 7,7.

du milieu extérieur et qui constituent un système dont le P.H. est de 7,7 à 7,8. Les expériences simples suivantes vérifient qualitativement cette idée :

Deux tubes contiennent l'un 2 cm³ d'eau de mer, l'autre 2 cm³ de sang de *Maia*. On ajoute dans chacun deux gouttes d'une solution de $\frac{N}{15}$ de phosphate primaire de potassium.

A la suite de cet apport, le P.H. de l'eau de mer passe de 8,15 à 6,3 environ. Celui du sang, par contre, ne s'abaisse que de 7,8 à 7,5.

Plaçons 5 cm³ d'eau de mer dans un tube, 5 cm³ de liquide intérieur d'Etoile de mer dans un second et la même quantité de sang de *Platycarcinus* dans un troisième. Colorons chaque tube par la même quantité de rouge phénol. Chaque tube présente une teinte différente, le plus alcalin étant l'eau de mer et celui qui l'est le moins le liquide d'Etoile de mer. Ajoutons dans chaque tube une goutte d'acide chlorhydrique $\frac{N}{10}$. La teinte du tube contenant le sang de *Platycarcinus* varie très peu, montrant ainsi la résistance de ce liquide aux modifications de réaction. Par contre, celle des deux autres tubes devient jaune clair, ce qui indique que le P.H. est tombé au-dessous de 7,0. Elle est la même pour les deux tubes. Les liquides qu'ils contiennent possèdent donc des « tampons » beaucoup moins efficaces que ceux du sang de Crustacés.

Nous voyons, qu'en résumé, les Invertébrés marins que nous venons d'étudier se partagent, au point de vue de la réaction ionique de leur milieu intérieur, en deux groupes : Le premier comprend les animaux dont le sang a pour P. H. 7,8. Ce sang possède des substances tampons qui s'opposent très efficacement aux variations de réaction. Ce groupe comprend les Crustacés et les Céphalopodes, c'est-à-dire des Invertébrés supérieurs. L'autre groupe est composé d'animaux dont la réaction du milieu intérieur se traduit par un P.H. de 7,3. Ce milieu intérieur ne contient que des tampons très faibles. Il se comporte comme l'eau de mer au point de vue de sa résistance aux changements de réaction. De ce groupe font partie les Echinodermes et les Vers, c'est-à-dire des Invertébrés inférieurs.

L'étude de la réaction ionique du sang et de sa résistance aux variations de réaction nous conduit donc à la même classification des Invertébrés marins que l'étude de la teneur en chlorure de sodium de ce sang.

III. — Réaction des tissus

La réaction ionique des tissus a donné lieu à des recherches beaucoup moins nombreuses que celles qui ont porté sur les liquides de l'organisme. Cela tient sans doute à ce que les techniques de mesure sont bien plus difficiles à appliquer aux tissus qu'aux humeurs. Cependant dès 1912 QUAGLIARIELLO et BOTTAZZI cherchèrent à déterminer la concentration en ions H⁺ des tissus. Pour cela ils en extrayaient le suc à l'aide d'une presse et mesuraient par la méthode électrométrique le P.H. de ce liquide. Ils arrivèrent à la conclusion que, tandis que le sang est légèrement alcalin, les tissus sont franchement acides, leur réaction se traduisant par un P.H. moyen de 6,0 environ. Récemment VLÈS et ses collaborateurs ont entrepris des recherches méthodiques sur ce sujet et sont arrivés aux mêmes résultats que leurs prédécesseurs (1).

Après avoir mesuré le P.H. du sang d'un certain nombre d'Invertébrés aquatiques,

(1) La bibliographie de cette question se trouve dans l'article de VLÈS (voir à la bibliographie).

nous avons pensé qu'il ne serait peut-être pas sans intérêt de faire quelques déterminations analogues sur les tissus. Elles ont porté presque uniquement sur le foie.

La technique utilisée a été la suivante : Un morceau de tissu prélevé sur l'animal vivant était rapidement et finement haché et broyé dans de l'eau distillée. De la sorte, les cellules du tissu étaient plasmolysées et laissaient leur contenu passer dans l'eau distillée. Le liquide, fortement teinté en général, était séparé par décantation. On en déterminait le P.H. soit par la méthode colorimétrique, soit par la méthode électrométrique. Elles nous ont toujours conduit à des résultats concordants. Lorsque l'on utilisait la première méthode, il était nécessaire de donner aux solutions de comparaison la même couleur que celle présentée par le liquide dont on voulait mesurer la réaction.

Nous n'ignorons pas que cette technique est passible de critiques mais aucune des méthodes proposées dans le même but n'en est exempte. La nôtre présente l'avantage d'être rapide, ce qui exclut la cause d'erreur provenant des actions diastatiques se produisant après le prélèvement des tissus. En outre la mesure du P.H. se fait sur un liquide très peu riche en substances colloïdales, condition favorable à une mesure exacte. C'est pourquoi nous pensons que notre méthode, sans être d'une grande précision, fournit des résultats dignes d'être retenus. Les voici :

	TISSUS	P.H. DU TISSU
Crustacés		
<i>Platycarcinus pagurus</i>	Foie	6,8
id.	Foie	5,9
<i>Carcinus mœnas</i>	Foie	6,1
<i>Portunus puber</i>	Foie	7,2
<i>Astacus fluviatilis</i>	Foie	6,0
id.	Foie	6,3
id.	Muscle	6,5
Mollusques		
<i>Sepia officinalis</i>	Foie	6,0
<i>Octopus vulgaris</i>	Foie	7,0
	Muscle	6,5
<i>Anodonta cygnea</i>	Foie	6,8
	Foie	6,8
	Muscle	6,7

Si l'on veut bien se rappeler que le P.H. du sang, de tous ces Invertébrés était de 7,7 à 7,8 on voit que la réaction des tissus (foie et muscles) est toujours plus acide que celle du sang. Elle est comprise en général entre P.H. = 6,0 et P.H. = 7,0. Nos déterminations sont en très bon accord avec celles des physiologistes qui se sont occupés de la même question, bien que notre technique soit différente de celles qu'ils ont utilisées.

Conclusions générales

I. — Concentration moléculaire du milieu intérieur des animaux normaux

Nous avons déterminé la concentration moléculaire du sang d'un certain nombre de Vertébrés et d'Invertébrés tant marins que d'eau douce. Plusieurs d'entre eux n'avaient pas encore été l'objet d'une semblable recherche. Les mesures nombreuses et précises que nous avons faites nous ont permis de rectifier certaines notions classiques qui reposaient sur des expériences peu exactes et d'en préciser d'autres qui n'avaient pour base que des recherches trop restreintes.

Nous avons montré que, contrairement à l'opinion généralement admise, la concentration moléculaire du sang des Sélaciens n'est pas rigoureusement égale à celle de l'eau de mer ambiante mais lui est toujours sensiblement supérieure, la différence entre les points de congélation de ces deux milieux pouvant dépasser 0°1. Les Sélaciens sont les seuls animaux marins dont le sang soit hypertonique à l'eau de mer.

Nous avons reconnu, et c'est une conception nouvelle, que la pression osmotique du sérum des Sélaciens vis-à-vis des globules rouges qu'il tient en suspension n'est pas celle que l'on peut déduire du point cryoscopique de ce sérum. Elle lui est notablement plus faible et cela provient de ce qu'une partie importante de la concentration moléculaire du sérum est produite par de l'urée, substance à laquelle les globules rouges sont perméables. Nous avons en outre montré que, si l'on peut penser que la majorité des tissus des Sélaciens se laissent pénétrer par l'urée, il en est certains, comme la peau et les branchies qui ne possèdent pas cette propriété. Vis-à-vis de ces tissus, la pression osmotique du sérum est celle que l'on déduit de la totalité de la concentration moléculaire, telle que le cryoscope la mesure.

Jusqu'à présent la notion classique qui indiquait que le milieu intérieur des Crustacés d'eau douce était notablement hypertonique à ce liquide ambiant n'avait pour base que des recherches effectuées sur l'Ecrevisse. Nous les avons étendues à un autre Crustacé, la Telphuse et nous avons constaté que le sang de cet animal était encore plus concentré que celui de l'Ecrevisse car il ne se congèle qu'à — 1°17, alors que celui de l'Ecrevisse le fait dès — 0°80. Nous avons en outre remarqué que la Telphuse était adaptée aux changements de salinité.

C'est un fait bien connu que le sang des Téléostéens marins est beaucoup moins concentré que l'eau de mer. Nous avons observé que cette hypertonie du sang est particulièrement grande chez la Rascasse. Le milieu intérieur de cet animal se congèle, d'après nos mesures, à — 0°63. C'est la température la plus élevée que l'on ait trouvée à notre connaissance, comme point cryoscopique du sang d'un Téléostéen marin.

II. — Teneur en NaCl du milieu intérieur des animaux normaux

Nous avons dosé le chlorure de sodium dans le milieu intérieur des différents animaux que nous avons utilisés. Nous avons employé une méthode analytique très précise (Méthode de LAUDAT). Nous avons montré que les résultats obtenus par d'autres physiologistes, QUINTON

en particulier, qui appliquaient directement la méthode de MOHR au sang, étaient entachés d'une erreur par excès qui pouvait atteindre plusieurs « pour cent ».

La méthode précise du dosage que nous avons employée nous a permis de constater, contrairement à l'affirmation de QUINTON que le sang des Crustacés et des Céphalopodes contenait toujours moins de chlore que l'eau de mer. Par contre, nous avons trouvé que le sang des Invertébrés inférieurs marins (Echinodermes, Vers) était aussi riche en chlorures que l'eau de mer.

Ayant déterminé la teneur en chlorure de sodium du sang d'un certain nombre de Vertébrés et d'Invertébrés et sa concentration moléculaire, nous avons cherché quelle part revenait à ce sel dans l'établissement de la concentration moléculaire. Nous avons montré que le rapport $\frac{\text{Concentration moléculaire due au NaCl}}{\text{Concentration moléculaire totale}}$ augmentait à mesure que l'on descendait dans l'échelle l'animal. En supportant le chlorure de sodium réparti dans tout le volume du milieu intérieur, on trouve que ce rapport est égal à 0,66 pour les Mammifères, à 0,75 chez les Téléostéens et à 0,92 chez les Invertébrés supérieurs (Crustacés-Céphalopodes). Il égale à très peu près l'unité pour les Invertébrés inférieurs marins (Echinodermes, Vers). En outre, il ne paraît pas dépendre de l'habitat de l'animal mais seulement de son degré d'organisation. Ainsi on lui trouve la même valeur pour les Téléostéens marins et ceux d'eau douce et de même la valeur 0,92 correspond aussi bien aux Crustacés d'eau douce qu'à ceux qui vivent dans la mer.

Le rapport que nous avons déterminé montre que le rôle du chlorure de sodium dans l'établissement de la concentration moléculaire du milieu intérieur devient de moins en moins important à mesure que l'organisme se perfectionne. Des substances minérales et organiques s'ajoutent à ce sel en quantité de plus en plus nombreuse pour produire la concentration moléculaire de ce milieu intérieur.

III. — Variation de la concentration moléculaire du milieu intérieur des animaux aquatiques sous l'influence de la modification de la salinité externe

Le principal but de notre travail a été de déterminer chez différents animaux aquatiques la relation qui unit la concentration du milieu intérieur à celle du liquide ambiant. C'est la partie la plus originale de nos recherches car, jusqu'à présent, peu de travaux avaient été faits sur cette question et ils n'avaient pas, en général, le but précis que nous nous étions proposé. Ils montrent seulement si la concentration du sang dépend ou non de celle du milieu extérieur, mais la loi qui régit les échanges osmotiques n'a pas été déterminée. C'est cette loi que nous avons voulu connaître. Nous l'avons représentée graphiquement.

Nous avons employé, au cours de ces recherches, une technique rigoureuse. Nous nous sommes assuré, ce que n'avaient pas fait nos devanciers, qu'au moment où nous prélevions le sang d'animaux transportés dans des milieux de salinité différente de celle que possède leur habitat normal, les échanges osmotiques entre le sang et le milieu extérieur étaient terminés. Grâce à cette technique précise, nous avons pu constater que, contrairement à la notion classique qui indique que le milieu intérieur des Crustacés d'eau douce est fixe, celui de la Telpuse pouvait subir de grandes variations de concentration, mais qu'elles se produisaient très lentement, nécessitant au moins 12 jours pour être complètes.

L'Anguille exceptée, tous les animaux d'eau douce (Carpe, Telpuse, Anodonte) modifient d'une même manière la concentration de leur milieu intérieur quand on les transporte dans

l'eau saumâtre. Tout d'abord cette concentration sanguine augmente beaucoup moins vite que celle de l'eau qui les baigne. Il en résulte que le milieu intérieur, normalement hypertonique à l'eau douce, devient, pour une certaine salinité extérieure, isotonique au liquide ambiant. L'isotonie persiste ensuite entre les deux milieux de l'animal quand on augmente davantage la salinité ambiante.

L'Anguille, Téléostéen adapté aux changements de salinité se comporte tout autrement. La concentration de son sang ne varie que très peu quand on transporte l'animal de l'eau douce dans l'eau de mer. Ce n'est que dans le cas où la salinité extérieure est très élevée et rapidement mortelle que la concentration du sang augmente d'une façon notable.

Les Téléostéens marins que nous avons examinés paraissent sans relation osmotique, ou à peu près, avec l'eau de mer ambiante. Le point de congélation du sang ne se modifiait pas (Rascasse, Murène) ou très peu (Congre) à la suite du transport de l'animal dans l'eau saumâtre ou même tout à fait douce.

Au contraire, la concentration du sang des Sélaciens est largement fonction de celle du liquide qui les entoure.

Le milieu intérieur des Invertébrés marins vivant à l'état de nature est isotonique avec l'eau de mer. Cette isotonie se maintient rigoureusement quand on augmente la salinité de celle-ci. Si on la diminue on constate qu'en général l'isotonie subsiste encore surtout chez les Invertébrés inférieurs. Chez les Crustacés, par contre, une trop forte dilution du milieu extérieur n'entraîne par une diminution équivalente de la concentration de leur sang qui reste légèrement hypertonique vis-à-vis de l'eau de mer diluée qui les entoure. Entre les limites de dilution que nous avons utilisées et qui permettaient une survie de l'animal de plusieurs jours, la différence de point de congélation entre le milieu intérieur et le milieu extérieur était toujours faible. Elle s'accroît à mesure que la salinité de l'eau de mer diminue.

Chez le *Carcinus maenas*, Crustacé adapté aux changements de salinité, ce phénomène est beaucoup plus accentué. Le sang de cet animal normalement isotonique avec l'eau de mer lui devient au contraire notablement hypertonique quand on abaisse la concentration de cette eau.

Ce résultat est nouveau car, jusqu'à présent, on pensait que le sang de tous les Invertébrés marins, y compris les Crustacés et le *Carcinus maenas*, se maintenait toujours isotonique avec le milieu extérieur.

IV. — Réaction ionique

Nous avons étudié quelques points concernant la réaction ionique des milieux intérieur et extérieur des animaux aquatiques.

A) Nous avons mesuré la réaction ionique de quelques cours d'eau et nous avons observé que cette réaction, voisine de la neutralité à l'émergence, devient de plus en plus alcaline au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la source et tend en général vers P.H. = 8,0. Des mesures comparatives faites le jour et la nuit nous ont montré que la cause de cette alcalinisation n'était pas l'assimilation chlorophyllienne des plantes aquatiques, celles-ci étant en quantité trop faible en général pour modifier par ce mécanisme la réaction de l'eau qui les entoure. Nous avons montré que cette élévation du P.H. résultait plus probablement du départ d'une certaine quantité de gaz carbonique que l'eau avait dissout pendant son trajet souterrain, avant l'émergence à la source.

B) Nous avons montré que les êtres aquatiques placés dans des liquides acidifiés, ou alcalinisés, tendaient toujours à ramener la réaction de leur milieu extérieur vers la neutralité.

C) L'étude de l'influence de l'acidité ou de l'alcalinité sur la survie des Poissons (Épinoches) nous a montré, qu'à réaction ionique égale, les différents acides et les différentes bases ne sont pas également toxiques. La toxicité dépend non seulement de la réaction mais surtout de la nature des composés qui la produisent. En eux-mêmes, les ions H et OH nous ont paru relativement peu toxiques.

D) Nous avons mesuré, soit par électrométrie, soit par colorimétrie, la réaction ionique du sang et des tissus de quelques animaux aquatiques.

Nous avons toujours trouvé la réaction du sang comprise entre $PH = 7,1$ et $PH = 7,8$. La nature du milieu extérieur paraît être sans influence sur cette réaction sanguine, car celle des Crustacés marins et des Crustacés d'eau douce s'exprime par le même P.H.

Les tissus sont moins alcalins que le sang et presque toujours acides, leur P. H. étant compris entre 5,8 et 7,0.

E) Nous avons indiqué un procédé très pratique de préparation de l'hydrogène nécessaire aux mesures électrométriques du P.H. (action du silicium sur la soude caustique).

ERRATA

Page 9, ligne 17, au lieu de *en s'adoptant*, lire : *en s'adaptant*.

Page 10, ligne 14, au lieu de *fosses à eau saumâtre*, lire : *fossés à eau saumâtre*.

Tableau de la page 77, colonne 5 (Différence entre...) ligne 2, au lieu de — $1^{\circ}12$, lire : — $0^{\circ}12$. Ligne 5, au lieu de — $1^{\circ}10$, lire : — $0^{\circ}10$.

Page 111, titre du paragraphe II. Au lieu de *chlorure de sodium de sang...*, lire : *chlorure de sodium du sang*.

Tableau de la page 157, tête de la deuxième colonne, au lieu de *acide chloridrique*, lire : *acide chlorhydrique*.

Bibliographie. RODIER. Au lieu de *C. R. Ac. Sc. 1908*, lire : *C. R. Ac. Sc., 1900*.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

B

- BACHRACH (E.). — De quelques facteurs qui conditionnent l'intoxication des poissons par certains sels minéraux. *C. R. Soc. Biol.*, 1921. 84. 357.
- BALLAND. — Sur la composition des Poissons, des Crustacés et des Mollusques *C. R. Ac. Sc.*, 1898. 126. 1728.
- BERNARD (Claude). — Leçons sur les phénomènes de la vie commune aux animaux et aux végétaux, 1878.
- BERT (P.). — Sur les phénomènes et les causes de la mort des animaux d'eau douce que l'on plonge dans l'eau de mer. *C. R. Ac. Sc.*, 1871. 73. 382-385; 464-467.
- BERT (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1871. 23. 59-61.
- BERT (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1877. 29. 100.
- BERT (P.). — Sur la cause de la mort des animaux d'eau douce qu'on plonge dans l'eau de mer et réciproquement. *C. R. Ac. Sc.*, 1883. 97. 133-136.
- BERT (P.). — Animaux d'eau douce dans l'eau de mer, animaux d'eau de mer dans l'eau dessalée, animaux d'eau de mer dans l'eau sursalée. *C. R. Soc. Biol.*, 1885. 37. 525-527.
- BERTIN (L.). — Les Grenouilles peuvent-elles s'adapter à l'eau saumâtre? *C. R. Soc. Biol.*, 1920. 83. 1308.
- BEUDANT (F.-S.). — Sur la possibilité de faire vivre des Mollusques d'eau douce dans les eaux salées et des Mollusques marins dans les eaux douces. *Ann. Chim. Phys.*, 1816. 2. 32-41.
- BLANCHARD (E.). — Les poissons des eaux douces de France. Paris, 1866.
- BORCEA (L.). — Quelques observations sur une Epinoche (*Gasterosteus aculeatus* L., var. *leiurus* Cuv. et Val.) provenant d'une rivière se déversant au fond de la baie Aber, près du laboratoire de Roscoff. *Bull. Soc. Zool. de France*, 1904. 29. 140.
- BOTTAZZI. — Pression osmotique du sang des animaux marins. *Arch. ital. de Biol.*, 1897. 28. 61-72.
- BOTTAZZI. — Sulla regolazione della pressione osmotica negli organismi animali. *Arch. d. Fisiol.*, 1905-1906. 2. 420.
- BOTTAZZI. — Osmotischer Druck und elektrische Leitfähigkeit der Flüssigkeiten der einzelligen, pflanzlichen und tierischen Organismen. *Ergebn., der Physiol.*, 1908. 7.

C

- CALUGAREANU. — Recherches chimiques et physico-chimiques sur le sang de l'Anodonte. *Bull. Section scientifique de l'Académie Roumaine*, 1914/5. 7. 216.
- CUVIER ET VALENCIENNES. — Histoire naturelle des Poissons, 1849.

D

- DAMBOVICEANU. — Recherches sur quelques constituants physico-chimiques du sang d'*Helix pomatia*. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 89. 261.
- DAMBOVICEANU. — Sur quelques caractères physico-chimiques du sang de l'Anodonte. *C. R. Soc. Biol.*, 1924. 91. 739.
- DASTRE (A.). — Traité de Physique biologique. Osmose, Paris, 1901. 1. 466-685.
- DEKHUYZEN (C.). — Sur la pression osmotique dans le sang et dans l'urine des poissons. *Arch. néer. Sc. expér. et nat.*, 1905. 10. 120-136.
- DUVAL (M.) (P. PORTIER et). — Variations de la pression osmotique du sang des poissons Téléostéens d'eau douce sous l'influence de l'accroissement de salinité de l'eau ambiante. *C. R. Ac. Sc.*, 1922. 174. 1366.
- DUVAL (M.) (P. PORTIER et). — Variations de la pression osmotique du sang des Sélaciens sous l'influence de la modification de la salinité de l'eau de mer environnante. *C. R. Ac. Sc.*, 1922. 174. 1493.
- DUVAL (M.) (P. PORTIER et). — Rapidité du changement de réaction de l'eau douce sous l'influence de l'assimilation chlorophyllienne dans la nature. *C. R. Soc. Biol.*, 1922. 87. 617.
- DUVAL (M.) (P. PORTIER et). — Variations de la pression osmotique du sang de l'Anguille en fonction des modifications de salinité du milieu extérieur. *C. R. Ac. Sc.*, 1922. 175. 324.

- DUVAL (M.) (P. PORTIER et). — Pression osmotique du sang de l'Anguille « essuyée » en fonction des modifications de salinité du milieu extérieur. *C. R. Ac. Sc.*, 1922. 175. 1105.
- DUVAL (M.) (P. PORTIER et). — Imperméabilité à l'urée de divers tissus des poissons Sélaciens. *C. R. Ac. Sc.*, 1923. 176. 920.
- DUVAL (M.) et DUMARAUD (P.). — Rapidité du changement de réaction des eaux de ruissellement. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 89. 398.
- DUVAL (M.). — Cicatrisation rapide et rétablissement des fonctions du cœur de la Carpe après incisions multiples et profondes du ventricule. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 88. 329.
- DUVAL (M.). — Perméabilité des globules rouges à quelques urées substituées ou sulfurées. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 88.
- DUVAL (M.). — Influence de l'acétamide et du biuret sur le volume globulaire. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 88.
- DUVAL (M.). — Pression osmotique effectuée du sérum des Sélaciens vis-à-vis de leurs globules. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 88.
- DUVAL (M.). — Influence du chlorhydrate de monométhylamine et du chlorure d'ammonium sur la pression osmotique physiologique des solutions de chlorure de sodium. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 89.
- DUVAL (M.). — Constance remarquable du milieu intérieur des Téléostéens marins. *R. Ac. Sc.*, 178. 128.
- DUVAL (M.). — Relation entre la concentration moléculaire du sang des Crustacés et celle du milieu extérieur. *C. R. Ac. Sc.*, 1924. 178. 1754.
- DUVAL (M.). — Sur la teneur en chlorure de sodium du sang de quelques Invertébrés marins. *C. R. Ac. Sc.*, 1924. 179. 706.
- DUVAL (M.). — Recherches sur le milieu intérieur des Invertébrés marins. Comparaisons entre la teneur en chlore de ce milieu et celle de l'eau de mer extérieure. *Bull. Station Biol. Arcachon*, 1924.
- DUVAL (M.). — Réaction ionique du sang de quelques Invertébrés. *C. R. Ac. Sc.*, 1924. 179. 1629.
- DUVAL (M.) GUEYLARD (F.) et PORTIER (P.). — Réaction ionique du foie dans la série animale. *C. R. Soc. Biol.*, 1925.

F

- FLORENTIN (R.). — Etudes sur la faune des mares salées de Lorraine. *Ann., Sc. Nat. Zool.*, 1899. 10. 282.
- FRÉDÉRICQ (L.). — *Bull. Ac. Roy. Belg.*, 1878. 1. 78.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Influence du milieu extérieur sur la concentration saline du sang chez quelques animaux aquatiques. *Bull. Ac. Roy. Belg.*, 1882. 4. 209.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Composition saline du sang et des tissus des animaux marins. *Liv. jubil. Soc. Méd. Gand*, 1884. 271.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Influence du milieu ambiant sur la composition du sang des animaux aquatiques. *Arch. Zool. expér. et gén.*, 1884. 2^e série. 3. 34.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Sur la physiologie de la branchie. *Arch. Zool. expér. et gén.* 1891. 2^e série. 9. 117-123.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Sur la concentration moléculaire des tissus des animaux d'eau douce. *Ann. Soc. Méd. Gand*, 1899.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Sur la perméabilité de la membrane branchiale. *Bull. Ac. Roy. Belg.*, 1901. 68-70.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Cryoscopie des solides de l'organisme. Procédés et résultats. *Arch. Biol.*, 1904. 20. 1-7.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus des animaux aquatiques. *Arch. Biol.*, 1904. 20. 799-730.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Sur la concentration moléculaire des solutions de sels et d'albumine. *Arch. Biol.*, 1904.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Sur la concentration moléculaire des tissus solides des animaux d'eau douce. *Ann. Soc. Méd. Gand*, 1905. 84.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Sur la concentration moléculaire des tissus solides chez les animaux aquatiques. *Arch. intern. de Physiol.*, 1911. 11. 24-28.
- FRÉDÉRICQ (L.). — Action du milieu marin sur les Invertébrés. *Arch. intern. de Physiol.*, 1922. 19. 309-351.

G

- GARREY. — The osmotic pressure of sea water and the blood of marine animals. *Biol. Bull.*, 1905. 8. 257-370.
- GARREY. — The resistance of fresh water fishes to changes of osmotic pressure and chemical conditions. *Amer. Journ. of Physiol.*, 1915. 39. 313-329.
- GARREY. — Some cryoscopic and osmotic data. *Biol. Bull.*, 1915. 28. 977-86.

- GIARD (A.). — Sur l'adaptation brusque de l'Épinoche (*Gasterosteus trachurus* Cuv. et Val.) aux eaux alternativement douces et marines. *C. R. Soc. Biol.*, 1900. 52. 46.
- GIRARD (P.). — Recherches expérimentales sur le mécanisme physico-chimique de l'hémiperméabilité des cellules vivantes aux électrolytes, *Journ. Physiol. et Pathol. gén.*, 1910. 12. 471-483.
- GIRARD (P.). — L'osmose aux points de vue physique et biologique. *Journ. Physiol. et Pathol. gén.*, 1911, 13. 359-371.
- GREENE. — Physiological studies of the chinook salmon. *Bulletin of the bureau of Fisheries*. 1904. 24. 431-456.
- GUEYLARD (F.). — Variations de poids de l'Épinoche passant de l'eau douce dans des solutions de chlorure de sodium à différentes concentrations. *C. R. Soc. Biol.*, 1922. 87. 869.
- GUEYLARD (F.). — Intervention de la rate dans les phénomènes d'adaptation aux changements de salinité. *C. R. Ac. Sc.*, 1923. 176. 917.
- GUEYLARD (F.). — Résistance des Épinoches aux variations de salinité. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 89. 78.
- GUEYLARD (F.). — De l'adaptation aux changements de salinité. Recherches biologiques et physico-chimiques sur l'Épinoche. *Arch. Phys. Biol.*, 1924. 3.
- GUEYLARD (F.), DUVAL (M.). — Toxicité de divers acides pour les poissons. *C. R. Ac. Sc.*, 1922. 175. 1243.
- GUEYLARD (F.), DUVAL (M.). — Respiration des poissons et réaction de l'eau distillée. *C. R. Soc. Biol.*, 1923. 88. 180.
- GUEYLARD (F.), PORTIER (P.). — Variations de poids de l'Épinoche passant d'un milieu à un autre de salinité différente. Étude de l'adaptation aux changements brusques de salinité. *C. R. Soc. Biol.*, 1917. 80. 538.
- GUEYLARD (F.). — Variations de poids de l'Épinoche morte (*Gast. leiurus*) sous l'influence des changements brusques de salinité. *C. R. Soc. Biol.*, 1917. 80. 683.
- GUEYLARD (F.). — Influence de la vie en eau salée sur le développement de la rate chez les poissons. *C. R. Ac. Sc.*, 1924. 179. 1292.
- GUI TEL (F.). — Recherches sur les Lepadogasters. *Arch. Zool. expér. et gén.*, 1888. 2^e série, 6.

H

- HALLIBURTON. — On the blood of Crustacea. *Journ. of Physiol.*, 1885. 6. 301-335.
- HAAS (A.-R.). — The permeability of living cells to acids and alkalies. *Journ. Biol. Chem.*, 1916. 27. 225-232.
- HAMBURGER. — Osmotischer Druck und Ionenlhere. Wiesbaden, 1902.
- HASSELBACH. — Détermination électrométrique de la réaction des liquides renfermant de l'acide carbonique. *C. R. Lab. Carlsberg*. 1911. 10. 69.

I

- ISALBERTI. — La réaction actuelle du sérum de sang dans les Oiseaux. *Arch. Ital. Biol.*, 1924. 73. 157-60.

J

- JOLYET (F.). — Sur quelques conditions de l'adaptation des Mammifères cétacés à la vie constante aquatique. *C. R. Soc. Biol.*, 1902. 54. 293.
- JOLYET (F.), REGNARD (P.). — Recherches physiologiques sur la respiration des animaux aquatiques. *Arch. de Physiol.*, 1877. 4. 44-62 et 584-633.

L

- LAPICQUE et M^{lle} TH. KERGOMARD. — Changements dans la réaction de l'eau douce sous l'action des plantes aquatiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1922. 87. 512.
- LAPICQUE (L.). — Mécanisme des échanges entre la cellule et le milieu ambiant. *C. R. Ac. Sc.*, 1922. 174.
- LEGENDRE (R.). — Variations diurnes de la concentration en ions hydrogène de l'eau de mer littorale. *C. R. Ac. Sc.* 1922. 175. 773.
- LÖB (J.). — La dynamique des phénomènes de la vie. Traduction DANDIN et SCHAEFFER. Paris, 1908.
- LÖB and WASTENEYS. On the influence of balanced and non balanced salt solutions upon the osmotic pressure of the body fluids of *Fundulus*. *Journ. Biol. chem.*, 1915. 21. 223-238.
- LOPEZ LOMBA. — Les Poissons, réactifs biologiques très sensibles des alcaloïdes. Paris, Jouve, éditeur, 1922.

M

- MASSART. — Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration saline. *Arch. de Biol.*, 1889. 9. 515.
 MATHEWS (A.-P.). — The toxic and antitoxic action of salts. *Amer. Journ. Physiol.*, 1905. 12. 419.
 MOREAU (E.). — Histoire naturelle des Poissons de France. Paris, 1881.
 MOURSON et SCHAGDENHAUFFEN. — Nouvelles recherches chimiques et physiologiques sur quelques liquides organiques (Eau des Oursins, eau des kystes hydatiques et des cysticerques, liquide amniotique). *C. R. Ac. Sc.*, 1882. 95. 791.

O

- OSTERHOUT et HAAS. — *Journ. Gen. Physiol.*, 1918. 1. 1.
 OSTWALD (W.). — Studies on the toxicity of the sea water for fresh water animals (*Gammarus pulex*). *Univ. Cal. Publ. Phys.*, 1905. 106. 568-598.

P

- PALITZSCH (S.). — Measurement of Hydrogen ion Conc. in Sea. *Report on the Danish Oceanographical Expedition, 1908-1910, to the Mediterranean and adjacent Seas*. Vol. I. Nr 6. Kopenhagen.
 PALITZSCH. — Über die anwendung von Borax und Borsäurelösungen bei der Kolorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonz. des Meerwassers. *Biochem. Ztschr.*, 1915. 70. 333 et *C. R. Lab. Carlsberg* (en français), 1916. 11. 199.
 PALITZSCH. — Manuel pratique de l'analyse de l'eau de mer : III Détermination des ions hydrogène par la méthode colorimétrique. *Bull. Inst. Océanographique Monaco*, 1922.
 PALITZSCH (S.). — The Ocean waters : VII Alkalinity and hydrogenion concentration. *Inter. Revue Hydrobiol. and hydrographie*, 1923. 398.
 PHILIPPSON (M.), HANNEVART (G.), THIÉREN (J.). — Sur l'adaptation d'*Anodonta cygnea* à l'eau de mer. *Arch. intern. de Physiol.*, 1910. 9. 460-472.
 PLATEAU (F.). — Recherches physico-chimiques sur les Articulés aquatiques. *Mém. Ac. Roy. Bel.*, 1870. 36.
 PLATEAU (F.). — Influence de l'eau de mer sur les animaux d'eau douce et de l'eau douce sur les animaux marins. *C. R. Ac. Sc.*, 1883. 97. 467.
 PORTIER (P.). — Adaptation du « *Cottus groenlandicus* » aux variations salines du milieu extérieur. *C. R. Congr. intern. Physiol.*, Groningue, 1913.

Q

- QUINTON (R.). — Hypothèse de l'eau de mer, milieu vital des organismes élevés. *C. R. Soc. Biol.*, 1897. 49. 935.
 QUINTON (R.). — Perméabilité de la paroi extérieure de l'Invertébré marin, non seulement à l'eau mais encore aux sels. *C. R. Ac. Sc.*, 1900. 131. 952. — Voir aussi *Bull. Soc. Scient. Arcachon*, 1899.
 QUINTON (R.). — L'eau de mer, milieu organique, 1904. Paris, Masson, éditeur.
 QUINTON (R.). — Communication osmotique, chez le poisson Sélacien marin entre le milieu vital et le milieu extérieur. *C. R. Soc. Biol.*, 1904. 2. 513. — Voir aussi *Bull. Soc. Scient. Arcachon*, 1904-1905.
 QUINTON (R.). — Absence de communication osmotique chez le poisson Téléostéen marin entre le milieu vital et le milieu extérieur. *Bull. Soc. Scient. Arcachon*, 1904-1905.
 QUINTON (R.). — Degré de concentration saline du milieu vital de l'Anguille dans l'eau de mer et dans l'eau douce et après son passage expérimental de la première eau dans la seconde. *C. R. Soc. Biol.*, 1904. 2. 470.

R

- RABUTEAU, PAPILLON. — Observations sur quelques liquides de l'organisme des Poissons, des Crustacés et des Céphalopodes. *C. R. Ac. Sc.*, 1875. 77. 135.
 REGNARD (P.). — Recherches expérimentales sur les conditions physiques de la vie dans les eaux. Paris, 1891. Masson, éditeur.
 RICHTER (Ch.). — De l'influence des milieux alcalins ou acides sur la vie des Écrevisses. *C. R. Ac. Sc.*, 1880. 90. 1166.

- RODIER (E.). — Observations et expériences comparatives sur l'eau de mer, le sang et les liquides internes des animaux marins. *Trav. de la Stat. zool. Arcachon*, 1899. 103-123.
- RODIER (E.). — Sur la pression osmotique du sang et des liquides internes chez les Poissons Sélaciens. *C. R. Ac. Sc.*, 1908. 131. 1008.

S

- SABBATANI (L.). — Détermination du point de congélation des organes animaux. *Journ. Physiol. Path. gén.*, 1901. 3. 939-950.
- SABBATANI. — *Arch. it. Biol.*, 1901. 36. 440.
- SABBATANI. — Sulla pressione osmotica degli organi. *Arch. d. Fisiol.*, 1907. 4. 6-14.
- SCHRÖDER. — Harnstoffbild der Haifische. *Zeit f. phys. chem.* 1890. 14. 576.
- STEDLER et FRERIGHS. — Über das Vorkommen von Harnstoff, Taurin und Scyllit in den Organen der Plagiostomen. *Journal f. Prakt. Chemie*, 1858. 73. 48.
- SUMNER. — The physiological effects upon fishes of changes in the density and salinity of water. *Bull. bureau of fisheries*, 1905. 25. 55-198.

V

- VARIGNY (H. DE). — Influence exercée par les principes contenus dans l'eau de mer sur le développement des animaux d'eau douce. *C. R. Ac. Sc.*, 1883. 97. 54.
- VARIGNY (H. DE). — Notes sur l'action de l'eau douce, de la chaleur et de quelques poisons sur le *Beroe ovatus*. *C. R. Soc. Biol.*, 1887. 39. 61.
- VLÈS (F.). — *Arch. Phys. Biol.* 1924, 4.

W

- WELLS (M.-M.). — Resistance and reactions of Fishes to temperature. *Trans. Ill. St. Acad. Sci.*, 1914. 7. 48-59.
- WELLS (M.-M.). — Reactions and resistance of Fishes in their natural environment to acidity, alkalinity and neutrality. *Biol. Bull.*, 1915. 29. 221-257.
- WELLS (M.-M.). — The reactions and resistance of Fishes in their natural environment to salts. *Journ. exp. Zool.*, 1915. 19. 243-283.
- WINDAUS (A.). — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1910. 65. 110.
- WINTER. — De la concentration moléculaire des liquides de l'organisme. *Arch. de Physiol.*, 1896, 5^e série. 8. 114-119.
- WINTER. — Du rôle des chlorures et des plasmas dans l'organisme. *C. R. Soc. Biol.*, 1896. 48. 692.
- WINTER. — De l'équilibre moléculaire des humeurs. *Arch. de Phys.*, 1896. 8. 287-297.
- WITTING. — Über das Blut einiger Crustaceen und Mollusken. *Journ. f. prakt. Chemie*, 1858. 73. 121.

Y

- YOUNG (R. T.). — Resistance of fish to salts and alkalinity. *Amer. Journ. Physiol.*, 1923. 63. 373.
- YUNG (E.). — De l'influence des milieux alcalins ou acides sur les Céphalopodes. *C. R. Ac. Sc.*, 1880. 91. 439.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	5
-------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Exposé général de notre travail. — Historique

I. — Animaux adaptés et animaux non adaptés aux changements de salinité.....	9
II. — Historique.....	11
III. — Considérations générales sur nos recherches relatives à la concentration moléculaire.....	22

CHAPITRE II

Exposé des méthodes et des appareils utilisés au cours de ces recherches

I. — Généralités.....	27
II. — Dosage du chlorure de sodium.....	27
III. — Cryoscopie.....	32
IV. — Volume globulaire.....	34
V. — Prélèvement du sang des animaux.....	36

CHAPITRE III

Étude du Téléostéen d'eau douce

I. — Généralités.....	41
II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du milieu intérieur des Téléostéens d'eau douce.....	41
III. — Variation de la concentration du milieu intérieur du Téléostéen d'eau douce quand on augmente la salinité du milieu extérieur qui l'environne.....	43
Généralités.....	43
A. — Expériences dans lesquelles la pression osmotique du milieu extérieur de la Carpe varie brusquement.....	44
Influence de la réaction du milieu extérieur sur les échanges entre le Téléostéen d'eau douce et ce milieu.....	47
B. — Expériences dans lesquelles la pression osmotique du milieu extérieur de la Carpe varie progressivement.....	49
IV. — Rôle des branchies dans les échanges entre les milieux intérieur et extérieur du Téléostéen d'eau douce.....	53

CHAPITRE IV

Étude du Téléostéen marin

I. — Généralités.....	57
II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du sang du Téléostéen marin....	57
III. — Influence de la modification de la salinité de l'eau de mer sur la pression osmotique du sang des Téléostéens marins.....	60

CHAPITRE V

Étude d'un Téléostéen adapté aux changements de salinité

I. — Généralités.....	63
II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du sang de l'Anguille.....	64
III. — Variation de la concentration du sang de l'Anguille sous l'influence de l'accroissement de salinité du milieu extérieur.....	66
IV. — Influence d'une longue durée de séjour en eau salée.....	69
V. — Rôle du mucus dans les échanges entre les milieux intérieur et extérieur de l'Anguille.....	72

CHAPITRE VI

Étude du Sélacien

I. — Généralités.....	75
II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du sang des Sélaciens.....	75
III. — Pression osmotique physico-chimique et pression osmotique physiologique du sérum des Sélaciens.....	78
IV. — Variations de la concentration du sang des Sélaciens sous l'influence de la modification de la salinité de l'eau de mer environnante.....	84
V. — Les tissus extérieurs du Sélacien sont-ils perméables à l'urée ? Variation de la concentration du sang du Sélacien quand la pression osmotique du milieu extérieur est produite par de l'urée.....	89

CHAPITRE VII

Etude de l'Invertébré marin

I. — Généralités.....	93
II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du milieu intérieur des Invertébrés marins.....	93
III. — Influence de la salinité de l'eau de mer sur la concentration du milieu intérieur des Invertébrés marins.....	99
IV. — Cas spécial du <i>Carcinus maenas</i> , Crustacé adapté aux changements de salinité.....	105

CHAPITRE VIII

Etude de l'Invertébré d'eau douce

I. — Généralités.....	111
II. — Pression osmotique normale et teneur en chlorure de sodium du sang des Invertébrés d'eau douce.....	111
III. — Variation de la concentration du milieu intérieur des Invertébrés d'eau douce quand on augmente la salinité de l'eau extérieure.....	116
Recherches sur la Telpuse.....	117
Recherches sur l'Anodonte.....	121

CHAPITRE IX

Conclusions

I. — Concentration moléculaire du sang des animaux vivants à l'état de nature.....	123
Teneur en chlorure de sodium du milieu intérieur. Son rôle dans l'établissement de la concentration moléculaire.....	126
II. — Influence des variations de la salinité du milieu extérieur sur la concentration du sang des animaux aquatiques.....	128

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Considérations générales

I. — Exposé de nos recherches.....	135
II. — Techniques utilisées	136

CHAPITRE II

Réaction ionique du milieu extérieur des animaux aquatiques

I. — Réaction de l'eau de mer.....	139
II. — Réaction de l'eau douce.....	140

CHAPITRE III

Influence de la vie des animaux aquatiques sur la réaction de l'eau qui les entoure

I. — Généralités.....	144
II. — Animaux placés dans leur milieu habituel.....	144
III. — Animaux placés dans de l'eau distillée rendue alcaline.....	146
IV. — Animaux placés dans des liquides acides.....	149
V. — Conclusion	150

CHAPITRE IV

Influence de la réaction du milieu extérieur sur la vie des poissons

I. — Généralités-Historique.....	153
II. — Toxicité de quelques acides.....	155
III. — Toxicité de quelques bases.....	158

CHAPITRE V

Réaction ionique du sang et des tissus de quelques animaux aquatiques

I. — Généralités.....	161
II. — Réaction du sang.....	161
III. — Réaction des tissus	164

Conclusions générales

I. — Concentration moléculaire du milieu intérieur des animaux normaux.....	166
II. — Teneur en NaCl du milieu intérieur des animaux normaux	166
III. — Variation de la concentration moléculaire du milieu intérieur des animaux aquatiques sous l'influence de la modification de la salinité externe.....	167
IV. — Réaction ionique.....	168
Index bibliographique.....	171
Table des Matières	177

DEUXIÈME THÈSE

Proposition donnée par la Faculté

Dosage au Potentiel

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 2 Avril 1925,

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

M. MOLLIARD.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

P. APPELL.

